UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
Faculté de Pharmacie.

1919—1920 N° 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES HÉMOGLOBINES.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Strasbourg
(mention Pharmacie)

Présentée et soutenue le 15 juillet 1920

par

JOSEPH THONNARD
Pharmacien
Mention honorable *(concours des Prix, Nancy 1914).*

Jury . . { MM. LAVIALLE ✠ A, *Président,*
LABORDE ✠ I,
VOLMAR.

LUXEMBOURG
IMPRIMERIE CENTRALE, GUSTAVE SOUPERT
1920.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548023_0056

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
Faculté de Pharmacie.

1919—1920 N° 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES HÉMOGLOBINES.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Strasbourg
(mention Pharmacie)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Présentée et soutenue le 15 juillet 1920

par

JOSEPH THONNARD
Pharmacien
Mention honorable *(concours des Prix, Nancy 1914).*

Jury . . MM. LAVIALLE ✡ A, *Président,*
LABORDE ✡ I,
VOLMAR.

LUXEMBOURG
IMPRIMERIE CENTRALE, GUSTAVE SOUPERT
1920.

A MES PARENTS

Témoignage de piété filiale.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. LAVIALLE

Hommage de profonde reconnaissance.

Personnel de la Faculté de Pharmacie

Université de Strasbourg.

ADMINISTRATION.

MM. JADIN, Doyen, ✪ I.
BRÆMER, Assesseur, ✲ ✪ I.
RENARD, Secrétaire.

PROFESSEURS.

MM.	BRÆMER, ✲ ✪ I	Matière médicale.
	JADIN, ✪ I	Pharmacie chimique.
	LABORDE, ✪ I	Chimie organique.
	SARTORY, ✲ ✪ I❀	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✪ A	Botanique.
	KUENY, ✪ A	Analyse chimique.

CHARGÉS DE COURS.

MM.	GAUTIER, ✪ A	Zoologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.

COURS COMPLÉMENTAIRES.

MM.	VOLMAR	Physique.
	KUENY, ✪ A	Toxicologie.
	JADIN, ✪ I	Pharmacie galénique.
	GAUTIER, ✪ A	Hydrologie.
	LABORDE, ✪ I	Chimie biologique.
	SARTORY, ✲ ✪ I❀	Botanique cryptogamique.
	BRÆMER, ✲ ✪ I	Législation et Déontologie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES.

MM.	LOBSTEIN	Chimie et Physique.
	FERRET	Chimie pharmaceutique.
	GARNIER	Micrographie.
	MAIRE	Bactériologie et Parasitologie.

Introduction.

L'étude de l'hémoglobine et de ses dérivés, l'oxyhémoglobine et la carboxyhémoglobine en particulier, a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux. Les uns l'envisagent au point de vue chimique pur, cherchant à déterminer sa composition élémentaire, la grosseur de sa molécule, le degré d'affinité qu'elle présente vis-à-vis de corps variés, spécialement vis-à-vis de l'oxygène et de l'oxyde de carbone, de l'hydrogène sulfuré, de l'acide cyanhydrique, etc. . .; les autres essaient d'en dévoiler les propriétés physiologiques, surtout en ce qui touche à son rôle de vecteur d'oxygène.

La toxicologie fait appel à l'action des réducteurs sur le sang, pour y caractériser la présence de l'oxyde de carbone, dans les cas d'intoxication. Ici, le toxicologue fait usage du spectroscope comme appareil de contrôle. Le spectre de l'oxyhémoglobine présente, en effet, dans sa partie la moins réfrangible, deux bandes caractéristiques occupant des positions bien déterminées. Si l'on fait agir, dans les conditions convenables, un réducteur sur du sang ne contenant que de l'oxyhémoglobine, les deux bandes spectrales disparaissent, et sont remplacées par une seule bande occupant une position intermédiaire aux deux premières. Si, au contraire, le sang renferme de la carboxyhémoglobine en proportion

suffisante, les deux bandes spectrales caractéristiques de ce dernier corps, dont les positions diffèrent peu de celles des deux bandes de l'oxyhémoglobine, résistent à l'action du réducteur. En sorte que, la résistance du pigment sanguin aux réducteurs, soulignée par la persistance des deux bandes du spectre, est considérée comme caractéristique de la présence de la carboxyhémoglobine. Comme on le verra dans la suite de ce travail, la plupart des ouvrages classiques de toxycologie ne fournissent pas de précisions suffisantes, sur les conditions dans lesquelles doivent être employés les réducteurs. Les conditions de concentration du réactif le plus couramment utilisé (le sulfure d'ammonium), la température à adopter, n'y sont presque jamais exactement fixées: fait véritablement surprenant pour un sujet que tant de travailleurs ont touché, et qui a motivé de si nombreux mémoires.

L'idée d'étudier, dans le détail, l'action des réducteurs sur l'oxyhémoglobine, nous a été suggérée par M. le Professeur LAVIALLE, à la suite d'une expérience faite, au cours de la guerre, dans le but de déterminer la cause de la mort rapide si souvent constatée au voisinage des points d'éclatement des projectiles. L'expérience fut conduite comme suit: un certain nombre de rats vivants furent placés au voisinage d'un point où on devait détruire des obus par explosion. La plupart des rats succombèrent et furent envoyés au laboratoire dans le but de rechercher dans leur sang l'oxyde de carbone, soit: la carboxyhémoglobine[1]). La température était basse (5° à 10°), le sulfure d'ammonium

[1]) On sait, en effet, que la déflagration d'un grand nombre d'explosifs produit de grandes quantités d'oxyde de carbone.

du laboratoire était vieux, oxydé, polysulfuré, fortement coloré. Les deux bandes spectrales fournies par le sang résistèrent obstinément, non seulement à l'action des quantités de réactif habituellement indiquées par les ouvrages spéciaux de toxicologie, soit à 1 à 2 gouttes par cent. cube, mais à un volume de ce même réactif sensiblement égal à celui du liquide sanguin examiné. Une plus grande quantité de réactif troublait la visibilité. Toute conclusion hâtive aurait amené à affirmer la présence de la carboxyhémoglobine dans le sang des rats. Toutefois, il était impossible d'admettre une transformation assez avancée de l'oxyhémoglobine en carboxyhémoglobine, pour supprimer l'interposition de la bande de l'hémoglobine réduite, provenant de la réduction de l'oxyhémoglobine restée intacte, aux bandes de la carboxyhémoglobine. — La solution d'hydrosulfite de soude vint lever le doute, fit disparaître complètement les deux bandes de l'oxyhémoglobine et apparaître la bande unique de l'hémoglobine réduite.

Nous avons entrepris de fixer, aussi rigoureusement que nous l'avons pu, les conditions à réaliser pour donner à l'emploi des réducteurs et tout particulièrement à l'emploi du sulfure d'ammonium, la sécurité que réclament les expertises toxicologiques. Nous nous sommes attaché à déterminer l'influence :

1° de la nature des réducteurs ;
2° de la concentration du réducteur ;
3° de la température ;
4° de l'agitation au contact de l'air ;
5° de l'origine de l'hémoglobine ;
6° de la concentration en hémoglobine.

Accessoirement, nous avons déterminé les degrés de stabilité:

1° de l'oxyhémoglobine à l'égard de l'hydrogène;

2° de la carboxyhémoglobine à l'égard de l'oxygène et d'un gaz inerte (l'hydrogène);

3° les conditions de formation de l'hémochromogène aux dépens de l'oxyhémoglobine.

En effet, si on ne dispose pas d'un spectroscope muni d'un micromètre, permettant de repérer exactement la position des bandes d'absorption, les deux bandes du spectre de l'hémochromogène peuvent être confondues, par des yeux peu exercés, avec les deux bandes de la carboxyhémoglobine.

Nous divisions notre travail en quatre chapitres:

1er chapitre: Généralités et Historique;

2e chapitre: Technique et Réactifs;

3e chapitre: Étude des oxyhémoglobines;

4e chapitre: Étude des carboxyhémoglobines.

Nous terminons par des considérations générales sur les oxyhémoglobines et les carboxyhémoglobines, et par des conclusions.

Que Monsieur le Professeur P. LAVIALLE, qui a bien voulu nous inspirer et diriger le présent travail, veuille bien accepter l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à nos anciens Maîtres MM. les professeurs de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nancy, auxquels nous devons en grande partie notre instruction professionnelle, et en particulier à M. le Professeur BRUNTZ, Doyen de la Faculté.

M. le Professeur JADIN, Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Strasbourg, nous a accueilli avec la plus grande bienveillance et nous a toujours témoigné le plus vif intérêt. Nous le prions de recevoir nos bien sincères remerciements.

Nos sentiments de reconnaissance vont également à nos anciens Maîtres de Luxembourg, le regretté Professeur D'HUART et M. le Professeur KLEIN.

CHAPITRE I.

Généralités et Historique.

I. Généralités.

L'étude du sang a toujours joui auprès des biologistes d'une grande faveur. A des époques assez éloignées de nous, où nos méthodes d'investigation n'étaient pas créées, on cherchait non seulement à établir les fonctions physiologiques du sang et de son pigment chez les animaux supérieurs, mais encore à distinguer les uns des autres les sangs des divers animaux. Pour donner un simple aperçu du besoin qu'éprouvaient, sur ce dernier point, les anciens biologistes, pour mettre en relief la pauvreté de leurs moyens de travail, et montrer combien étaient rudimentaires les connaissances de leur temps sur ce sujet, nous citerons ici des extraits des travaux de Barruel et de Casanti, qui proposent chacun une méthode de distinction des divers sangs. Barruel [1]) en 1827, remarque qu'en chauffant du sang avec de l'acide sulfurique, il se dégage une odeur caractéristique, variable pour chaque espèce animale: « Le sang, pour chaque espèce animale, dit Barruel, contient un principe odorant particulier à cette espèce, très volatil, ayant une odeur semblable

[1]) BARRUEL - in Florence Alb. *Les Taches de Sang.* Th. Méd, Lyon 1885, p. 100.

à celle de la sueur ou de l'exhalation pulmonaire de l'animal: ce principe est dégagé par l'action d'un acide puissant. L'odeur est plus prénoncée chez le mâle que chez la femelle. La couleur des cheveux chez l'homme y apporte des nuances. Le sang d'homme a une forte odeur de sueur d'homme, qu'il est impossible de confondre avec toute autre; celui de bœuf a une odeur de bouverie ou de bouse de bœuf: celui de cheval a une forte odeur de sueur ou de crottin; celui de brebis, une vive odeur de laine imprégnée de suint; celui de chien, l'odeur de la transpiration de chien; celui de porc, une odeur désagréable de porcherie; celui de rat, une forte odeur de rat. On obtient des résultats analogues avec le sang des diverses volatiles, des poules, des dindes, des canards, des pigeons; enfin le sang de grenouille dégage une forte odeur de joncs marécageux». Barruel et quelques autres experts se sont servis de ce procédé avec fruit, et n'ont pas craint d'affirmer les résultats obtenus dans leurs rapports.

Casanti [1]) dessèche la macération de la tache sanguine, puis traite le résidu par un excès d'acide phosphorique à 1,18 de densité. Le sang des mammifères s'agglutine en une masse brillante homogène, cohérente, et plus ou moins tenace; tandis que celui des oiseaux est entièrement dépourvu de ce caractère. Ce point acquis, il s'agit de distinguer le sang de l'homme de celui des autres mammifères. Ayant mis dans un verre Ogr 30 de sang humain réduit en poudre fine, puis Ogr 45 d'acide phosphorique, Casanti a observé qu'en agitant avec un tube de verre, ce sang se gonfle et se ramollit, les particules s'attirent et adhèrent ensemble, puis s'unissent en une masse très brillante, de couleur hépatique, de consistance d'extrait, mais glutineuse et ayant beaucoup de plasticité. En la comprimant avec un tube de verre, elle cède à la pression sans se diviser, et devient au contraire homogène. Abandonnée à elle-même, elle prend de la dureté sans perdre son brillant.

[1]) CASANTI - in Florence. *Les Taches de Sang.* Th. Méd, Lyon 1885, p. 101.

Le sang de cheval donne un résultat tout différent. L'acide phosphorique gonfle et ramollit la poudre d'abord, mais les particules, au lieu de se mettre en masse, ne forment que des grumeaux durs et brillants, qui refusent obstinément d'adhérer entre eux, et même se divisent d'autant plus qu'on cherche à les réunir. Le sang de bœuf, de veau, de mulet, de jument, de porc, de chevreuil, de cobaye, donnent les mêmes résultats que celui de cheval; celui de chat forme une seule masse comme celui de l'homme.

Day et Neumann [1]) ont donné un procédé plus empirique encore de distinction des sangs. Ils ont essayé d'utiliser l'apparence des fines stries qui sillonnent la tache de sang desséchée, ou celles que présentent les résidus de la dessiccation d'une goutte de liquide sanguin sur une lame de verre.

En 1862, Hoppe F. constate la présence de deux bandes obscures dans le spectre fourni par une solution aqueuse très diluée de sang. Il situe ces bandes entre les raies D et E de Fraunhofer. Il constate que la largeur des deux bandes d'absorption s'accroît avec l'épaisseur du liquide examiné et avec la concentration. Pour une forte teneur en sang, il remarque que les bandes se confondent. Hoppe F. signale que, dans les mêmes conditions, le violet et le bleu s'éteignent de plus en plus.

Angström [2]) (1862), d'Upsala, permit de situer les bandes dans le spectre et d'éviter les désaccords créés par l'emploi de micromètres différents en inaugurant la nomenclature des radiations par longueur d'onde.

Stokes G. (1864), intrigué par les recherches de Hoppe-Seyler, eut l'idée de faire agir sur le sang différents réactifs, notamment les réducteurs. Il chercha à imiter le changement de couleur qui accompagne le passage du sang de l'état artériel à l'état veineux. Comme réducteur, il utilisa une

---

[1]) DAY et NEUMANN - in Florence 1885.
[2]) ANGSTRÖM - in Formanek 1905.

solution alcaline d'acide tartrique et de sulfate ferreux. L'action de ce réactif sur le sang artériel se révéla par un changement de couleur: le liquide rouge vif devint rouge-pourpre. Ce changement de couleur était accompagné d'une modification considérable du spectre qui, de deux bandes, passa à une seule bande d'absorption. Stokes démontra, d'autre part, que le changement de couleur est bien dû à une modification de la matière colorante du sang, et non à une combinaison du réducteur avec cette matière colorante. Le sulfate ferreux, le sulfure d'ammonium et le protochlorure d'étain l'amenèrent au même résultat. Stokes en conclut que la matière colorante du sang est capable d'exister sous deux états qui se distinguent par leur couleur et par leur action sur le spectre.

Hoppe-Seyler (1864) traitant une dilution de sang artériel par un courant d'anhydride carbonique maintenu pendant plusieurs heures, remarque le passage de la coloration du sang artériel à la coloration du sang veineux. Cette modification de la coloration était accompagnée de la disparition des deux bandes spectrales et de l'apparition d'une bande unique, située entre les deux premières. Hoppe-Seyler obtenait ainsi, à l'aide de gaz carbonique, les phénomènes déjà signalés par Stokes, dans l'action des réducteurs sur le sang. Il confirme les observations de Stokes sur l'action réductrice du sulfure d'ammonium. Il remarque en outre que si on agite au contact de l'air les liquides sanguins réduits par le sulfure d'ammonium, on voit réapparaître les deux bandes primitives que le repos fait disparaître de nouveau peu à peu.

Dans le même travail, page 819, l'auteur, examinant au spectroscope le sang d'un lapin mort par immersion, constate l'absence des deux bandes d'absorption caractéristiques du sang artériel et l'existence d'une seule bande, occupant la même position que la bande obtenue à l'aide du sulfure d'ammonium.

Hoppe-Seyler, par ses découvertes des bandes d'absorption du sang artériel et du sang oxycarboné, d'une part,

et d'autre part Stokes, dans sa découverte de l'unique bande que fournit la réduction du sang artériel, ont posé les bases sur lesquelles reposent toutes nos connaissances relatives à la spectroscopie du sang.

II. Oxyhémoglobine.

Magnus (1837) [1]) pense que l'oxygène est en totalité dissous dans le sang.

Meyer Loth. (1857) [2]) signale au contraire, que la presque totalité de l'oxygène est combiné chimiquement à l'hémoglobine.

Hoppe F. (1862) ne constate (page 446) aucune modification spectrale du sang par un courant d'oxyde de carbone, d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré, d'hydrogène arsénié, de protoxyde d'azote; par l'éther, le sulfure de carbone, l'ammoniaque et l'acide arsénieux. Cependant l'acide sulfhydrique provoque l'apparition d'une troisième bande dans le rouge.

Valentin (1864) constate chez les marmottes hibernantes que la différence de coloration entre le sang artériel et le sang veineux est beaucoup moindre que chez l'animal en période d'activité et que le sang présente alors la coloration rouge-cerise.

Donders C. (1872) indique (page 23) les résultats qu'il a obtenus dans l'action de l'hydrogène sur le sang: « A 0°, dit-il, la température de dissociation est à peine atteinte; à 1° on l'aperçoit très faiblement; à 37° le passage d'un courant d'hydrogène déplace plus d'oxygène en 10 secondes qu'à la température de 1° en 1000 secondes». Plus loin, à propos de l'action d'un courant d'anhydride carbonique, le même auteur

[1]) MAGNUS - in V. Gorup-Besanez. *Physiologische Chemie* 1852, p. 321.

[2]) MEYER Loth. - in Landois-Rosemann 1916.

écrit: « A la température de 37° l'oxygène est plus vite déplacé qu'à 0°. L'anhydride carbonique agit plus rapidement que l'hydrogène ».

Bert M. (1875) étudiant (page 103) la capacité d'absorption de l'oxygène par le sang, conclut: « Il y a donc une oxyhémoglobine, principe défini, qui ne peut s'oxyder d'avantage. »

Vierordt [1]) (1875 et 1878) observe que si on entrave la circulation dans deux doigts par exemple, on remarque bientôt, en observant la peau au spectroscope, que l'oxyhémoglobine s'est réduite.

Dennig [2]) (1883) remarque que le froid entrave la réduction de l'oxyhémoglobine.

Hoppe-Seyler (1889) dans une étude sur l'action de l'hydrogène, écrit (page 481): « Si on réduit la tension de l'oxygène par le passage d'un courant d'hydrogène pur pendant un certain temps, on assiste au remplacement des deux bandes du sang artériel par la bande unique du sang veineux. » Un peu plus loin, page 483, l'auteur ajoute: « On peut déplacer l'oxygène de l'oxyhémoglobine qui y est combiné d'une façon instable, par un courant d'hydrogène maintenu pendant une à deux heures à la température de 15°. »

Bohr Chr. (1890) pense (p. 249) qu'à côté de l'oxyhémoglobine connue généralement, il existe au moins trois autres combinaisons d'oxygène et d'hémoglobine qui montrent toutes les mêmes bandes d'absorption, mais auxquelles l'oxygène est combiné d'une façon instable et en des proportions différentes: « Il existe, dit-il, une espèce d'hémoglobine qui, à une pression de 150 mm. absorbe environ 2,7 cent. cubes d'oxygène, conditions dans lesquelles l'hémoglobine ordinaire absorberait seulement 1,7 cent. cube du même gaz. Il m'était impossible

---

[1]) VIERORDT (1875 et 1878) - in Landois-Rosemann. *Lehrbuch der Physiologie*, Berlin 1916 Bd. I, p. 65.

[2]) DENNIG (1883) - in Landois-Rosemann. *Lehrbuch der Physiologie*. Berlin 1916.

de préparer à volonté cette espèce d'hémoglobine. On l'obtient de temps à autre dans la préparation de l'hémoglobine. Jusqu'ici je l'ai trouvée dans les solutions à 1 %.»

Siegfried M. (1890) signale (p. 386) qu'on peut encore caractériser par le spectroscope la présence de l'oxyhémoglobine dans un mélange d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine réduite ne renfermant que 0,50 % d'oxyhémoglobine.

Luzet Ch. (1892) écrit (p. 119): «Henocque appelle durée de réduction le temps qui s'écoule entre la ligature (du pouce) et la disparition des bandes de l'oxyhémoglobine. Normalement cette durée est de 70 secondes.»

Gautier A. (1897) écrit à propos de l'action des gaz inertes (p. 362): «Lorsqu'on fait passer un courant de gaz, inertes pour le pigment sanguin (azote ou hydrogène), dans une solution d'oxyhémoglobine, on la décompose en oxygène entrainé par le courant gazeux et hémoglobine.»

Loewy A. (1904) écrit: «La tension de dissociation de l'oxyhémoglobine de l'homme et du chien parait montrer des différences individuelles.»

Manchot (1909) signale la fixation de l'acétylène et de l'éthylène par les hémoglobines. Il constate que la dilution du sang augmente son pouvoir absorbant à l'égard des gaz.

Barcroft J. et King R. (1909) déterminent la forme de la courbe de dissociation pour quatre températures: 14°; 26°; 32°; et 38°. La nature de la courbe montre que l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène diminue à mesure que la température s'élève. Pour une solution pure d'hémoglobine, les tensions de dissociation à 36° et à 41° sont entre elles dans le rapport de 1 à 1,7.

Barcroft J. et Roberts F. (1909), étudiant la courbe de dissociation des solutions d'hémoglobine, concluent que la forme de la courbe est indépendante de la concentration des solutions en hémoglobine, mais qu'elle dépend de la concentration en sels.

Barcroft J. et Camis M. (1909), à propos des différences observées dans l'allure des paraboles représentant la dissociation des oxyhémoglobines dans le vide, écrivent: «Il n'existe pas de parabole fixe . . . . La parabole dépend des sels du sérum . . . . Cette parabole n'est pas constante pour la même espèce de sang».

Krogh A. (1910) à propos de l'oxyhémoglobine écrit: «L'hémoglobine d'animaux différents ne doit pas posséder nécessairement la même relation d'affinités pour l'oxygène et pour l'oxyde de carbone. Si c'est bien le cas, la tension de l'oxygène du sang artériel d'un animal ne peut pas être déduite du pourcentage de la saturation en oxyde de carbone».

Barcroft J. et Hill V. (1910) déterminent l'action d'un gaz inerte (l'azote) sur l'oxyhémoglobine. Ces auteurs opèrent sur une solution d'hémoglobine dialysée et concentrée par la pompe. Ils font leurs essais à deux températures (18° et 38°) obtenues à l'aide d'un bain-marie, chauffé par un bec de Bunsen. L'azote passe bulle par bulle. Au bout d'un certain temps, la solution est soumise à l'action de la pompe, pour le dosage de l'oxygène resté combiné et, par différence, de l'oxygène qui s'est dégagé sous l'influence du courant gazeux. Les résultats obtenus sont les suivants: à 18°, il faut 35 minutes pour abaisser la saturation de l'hémoglobine de 100% à 94%. A 38°, le même résultat a été obtenu en deux minutes six secondes. Les auteurs en concluent que la rapidité de la réduction de l'oxyhémoglobine est 14 fois plus grande à 38° qu'à 18° (soit pour une différence de température de 20°.)

Il y a lieu de remarquer que Barcroft et Hill opèrent sur une hémoglobine dont ils n'indiquent pas l'origine; ils ne fixent pas exactement la vitesse du courant gazeux. La température du bain-marie chauffé par un bec de Bunsen était aussi, d'après les auteurs eux-mêmes, sujette à quelques variations.

La suite de notre travail montrera l'importance de la stabilité de la température, de l'intensité du courant gazeux et de l'origine de l'hémoglobine.

Wolff J. (1911) étudiant (p. 1332) l'influence de la température sur la réduction de l'oxyhémoglobine par le sulfure d'ammonium, la trouve considérable: «Les temps de réduction observés par moi, dit-il, au cours d'expériences poursuivies dans des conditions identiques, ont été: 35 minutes à 9°; 18 minutes à 14°; 6 minutes 30 secondes à 21°; 3 minutes à 28°; 45 secondes à 35°.»

Oinuma-Soroku (1911) signale que la vitesse d'oxydation du sang baisse lorsque la température s'élève.

Hartridge H. (1912) signale que la lumière solaire peut dissocier rapidement la carboxyhémoglobine.

Krogh A. (1919) étudiant les tensions de dissociation d'animaux variés, écrit à propos des poissons: «Dans de l'eau fraîche et dans celle où les poissons ne sont jamais exposés à de faibles pressions d'oxygène, la tension de dissociation dans le sang exempt d'anhydride carbonique, est, à 15°, presque aussi grande que chez les mammifères à 37°».

On verra plus loin que l'étude de l'action du sulfure d'ammonium sur les oxyhémoglobines nous a amené à des conclusions identiques à celles de Krogh.

Oppenheimer (1919) pense que la capacité de fixation de l'hémoglobine pour l'oxygène chez les différents animaux, n'est pas due aux différences de constitution des hémoglobines, mais simplement à des changements physico-chimiques du milieu; concentration en ions et en anhydride carbonique.

III. Carboxyhémoglobine.

Claude-Bernard (1857) parait être le premier qui ait étudié expérimentalement les causes profondes et les caractères physiologiques de l'intoxication par l'oxyde de carbone: «Ce gaz porte donc, dit-il, (page 195) son effet sur le sang; par son action les globules deviennent incapables d'entretenir la respiration. Il y aurait donc empoisonnement par manque d'oxygène ou asphyxie, bien que cependant les caractères habituellement signalés de l'asphyxie ne se rencontrent pas. Il serait nécessaire pour comprendre cette espèce nouvelle d'asphyxie d'élargir la définition et d'y faire la part d'une asphyxie avec le sang rouge. Ici, l'oxygène ne peut plus entrer, l'acide carbonique ne peut plus sortir, le cœur bat encore pendant quelque temps et lance dans le système circulatoire des matériaux sanguins inertes.» Dans le même travail le même auteur écrit (p. 181):

«Il est remarquable que, dans l'action de l'oxyde de carbone sur le sang cette coloration rutilante que nous avons déjà fait connaître dans nos leçons il y a environ dix ans (1846), soit le seul effet produit d'une manière appréciable». Et enfin, p. 183: «Quand on met du sang en présence d'un gaz, de l'acide carbonique, de l'oxygène, et même de l'azote, il y a échange des gaz du sang avec les premiers; c'est même par ce procédé qu'on opère les déplacements des gaz du sang. L'oxyde de carbone trouble ou empêche cet échange; sous son influence les globules, étant altérés physiologiquement, ne prennent plus de gaz au milieu dans lequel ils se trouvent et ne lui cèdent pas les gaz qu'il renferment.»

Hoppe F. (1857) constate (p. 288) que, sous l'action de l'oxyde de carbone le sang artériel et le sang veineux deviennent rutilants. Il remarque également que le sang oxycarboné n'est modifié dans sa couleur ni par l'action d'un courant d'anhydride carbonique, ni par l'action d'un courant d'air, ni par un repos de plusieurs jours. Il déclare que, sous

l'action du vide la teinte du sang oxycarboné ne se fonce pas comme celle du sang artériel; ni l'oxygène, ni la putréfaction ne modifient le sang traité par l'oxyde de carbone. Ce même auteur renouvelle la remarque de Claude-Bernard relative à l'impossibilité pour la carboxyhémoglobine de jouer le rôle de vecteur d'oxygène et d'entretenir la respiration.

Hoppe-Seyler (1864) observe (p. 819) qu'une dilution sanguine donnant au spectroscope soit les deux bandes du sang artériel, soit la bande unique du sang veineux, traitée par un courant d'oxyde de carbone, fournit un nouveau spectre caractérisé par deux bandes d'absorption: la bande de gauche se trouvant un peu plus éloignée de la raie D que celle du spectre fournie par l'agitation au contact de l'air.

Hoppe-Seyler (1865) dans son étude sur la carboxyhémoglobine remarque (p. 52) pour la première fois un fait capital relatif à l'action du sulfure d'ammonium sur la carboxyhémoglobine: « Le sang traité par l'oxyde de carbone, écrit-il, donne un spectre qui, à une dilution convenable, présente presque les mêmes bandes d'absorption que l'oxyhémoglobine. Mais si on ajoute au sang oxycarboné du sulfure d'ammonium, les deux bandes ne disparaissent pas, même après plusieurs jours de contact. Tandis que le sang oxyhémoglobiné donne après plusieurs minutes une seule bande spectrale entre les raies D et E. C'est à cette stabilité du sang oxycarboné à l'égard du sulfure d'ammonium qu'on reconnaît la présence de l'oxyde de carbone dans le sang. » Plus loin: « Le sang défibriné et oxycarboné perd, au repos et au contact de l'air, son oxyde de carbone, et alors le sulfure d'ammonium fait disparaître les deux bandes. » L'auteur constate, de plus, qu'à une température moyenne la perte en oxyde de carbone au contact de l'air devient remarquable au bout de quelques jours.

Eulenberg [1]) (1865) conteste (p. 52) le fait annoncé par Kuhn, que, seul l'oxyde de carbone fixé physiquement peut être extrait par le vide.

---

[1]) EULENBERG - in Cherbuliez E. *Thèse méd.* - Paris 1890. p. 101.

Preyer W. (1867) écrit (p. 274): «Si une dilution de carboxyhémoglobine se trouve en présence de sulfure de potassium, les deux bandes d'absorption ne sont pas modifiées, même après quelques jours. Mais, si on porte le liquide à l'ébullition, les deux bandes de la carboxyhémoglobine disparaissent pour réapparaître après refroidissement.»

Podolinski S. (1872) suppose (p. 553) que les auteurs n'ont pas réussi à chasser l'oxyde de carbone par les gaz inertes parce qu'ils ont pris une trop grande quantité de sang: «Il suffit, dit-il, d'une demi-heure pour libérer l'oxyde de carbone du sang oxycarboné par le passage d'un courant d'hydrogène.» Podolinski signale que l'air agit plus vite que l'hydrogène; mais il ne fixe pas la vitesse des courants gazeux et il ne cherche pas à déterminer l'influence de la température.

Donders (1872), étudiant l'action de l'oxygène sur du sang défibriné, oxycarboné, remarque (p. 23) qu'à la température de 5° il y a perte d'oxyde de carbone. L'hydrogène et l'anhydride carbonique conduisent au même résultat. L'action de ces gaz prive, peu à peu, le sang de son oxyde de carbone. L'auteur ajoute que l'hypothèse de Hermann selon laquelle l'oxygène ne pourrait pas déplacer l'oxyde de carbone de sa combinaison hémoglobinique, n'est pas exacte. Donders constate encore que l'action de l'hydrogène est fortement influencée par l'élévation de température. Cette influence de la température est trouvée moindre dans le cas du déplacement de l'oxyde de carbone se dégage sous la forme d'oxyde de carbone et non à l'état d'anhydride carbonique.

Mac Munn (1880) écrit (p. 76) à propos du spectre de la carboxyhémoglobine: «Le spectre de la combinaison de l'oxyde de carbone avec l'hémoglobine n'est pas changé par l'addition de sulfure d'ammonium ou d'un autre réducteur.» Plus loin (p. 77): «Par l'addition de sulfure d'ammonium au sang oxycarboné de souris, il n'y a pas de réduction après 48 heures, mais dans le rouge s'est formée la bande de la sulfhémo-

globine.» Le même auteur relate que Baeblich a démontré que si l'on traite du sang oxycarboné par un courant d'oxygène il peut être réduit ensuite par le sulfure d'ammonium. De là l'emploi de l'oxygène comme antidote. — Mac Munn rapporte aussi que Podolinski a prouvé que du sang oxycarboné, agité pendant une demi-heure avec l'hydrogène, ou mieux avec l'oxygène est complètement dépouillé de son oxyde de carbone.

Florence A. (1885) rapporte que l'oxyde de carbone se substitue volume à volume à l'oxygène de l'hémoglobine et donne un composé nouveau, stable, difficilement réductible.

Hoppe-Seyler (1889) faisant agir un courant d'hydrogène sur la carboxyhémoglobine pendant 5 à 6 heures n'observe aucune dissociation si la température n'est pas très élevée (p. 484).

Berthelot [1]) (1889) fixe la quantité de chaleur dégagée par l'union de 28 gr. d'oxyde de carbone à l'hémoglobine à 18,7 calories.

Cherbuliez E. (1890) dans son étude spectrophotométrique du sang oxycarboné signale que les accidents mortels produits par l'oxyde de carbone surviennent bien avant que toute la masse du sang soit passée à l'état de sang oxycarboné. Il écrit (p. 8): «L'affinité de l'oxyde de carbone pour le sang et la stabilité de la combinaison oxycarbonée sont telles que pour obtenir la totalité des gaz fixés par l'hémoglobine il faut faire intervenir une élévation de 40° et pousser même à la fin de l'opération cette température jusqu'à 100°.»

Piotrowski G. (1893) soumet à l'action de l'air (par barbottage) pendant 4 heures 30 minutes du sang oxycarboné renfermant 19 % d'oxyde de carbone. A la fin de l'expérience le sang ne contenait plus que 1,5 % d'oxyde de carbone. L'auteur ne mentionne pas la température.

---

[1]) BERTHELOT - in Würtz A. *Dictionnaire de chimie.* Paris 1906.

Hüfner (1895) écrit (p. 221): «La constante de la dissociation de la carboxyhémoglobine est 33 fois plus petite que celle de l'oxyhémoglobine dans les mêmes conditions.»

Haldane (1895) cite p. 462) que l'affinité de l'oxyde de carbone pour l'hémoglobine est environ 140 fois plus grande que celle de l'oxygène.

Bock J. [1]) (1895) émet l'avis que la température n'influence pas la dissociation de la carboxyhémoglobine.

De Saint-Martin G. [2]) remarque que l'ébullition prolongée pendant 6 heures à $+40^{o}$ dans le vide n'a amené la dissociation que de $1/10^{e}$ environ de l'hémoglobine oxycarbonée.

Grehant N. (1901) étudiant l'utilité de l'action de l'oxygène pur sur les animaux asphyxiés par l'oxyde de carbone s'exprime ainsi (p. 374): «Si l'on fait respirer à un animal, empoisonné et menacé de mort, de l'oxygène à 90 %, on constate au bout d'une heure que 100 cent. cubes de sang artériel contiennent 18,8 cent. cubes d'oxygène et seulement 1,1 cent. cube d'oxyde de carbone. Si on remplace l'oxygène par de l'air pur dans le traitement d'un empoisonement semblable, on constate qu'au bout de trois heures (soit en un temps triple), 100 cent. cubes de sang artériel contiennent 16,6 d'oxygène et encore 4,5 d'oxyde de carbone: soit quatre fois plus qu'après une heure de respiration d'oxygène. L'élimination et la disparation du poison sont donc considérablement accélérées par l'emploi de l'oxygène, qui s'impose dans le traitement de l'intoxication oxycarbonée.»

Ostwald W. (1908) admet que la fixation des gaz du sang se fait par adsorption analogue à l'adsorption des gaz par le charbon ou par la mousse de platine.

---

[1]) BOCK J. - in Abderhalden E. Biochem. *Handlexikon* 1906. Vol. VI p. 210.

[2]) DE SAINT-MARTIN - in Würtz A. *Dictionnaire de chimie*, Paris 1906.

Gilbert A. et Thoinot L. (1910) citent (p. 76) les résultats suivants obtenus par De Saint-Martin : « Lorsqu'on fait arriver un courant abondant d'oxygène sur du sang oxycarboné on peut oxyder l'oxyde de carbone contenu dans les globules et le transformer en anhydride carbonique. »

Letsche E. (1910) remarque dans ses essais sur l'action de l'hydrazine à l'égard de l'extraction des gaz de la carboxy-hémoglobine, que des teneurs en hémoglobine de 1,50 à 11,51 % ne donnent pas de différences.

Du Bois-Raymond (1914) ne trouve guère de différence entre la chaleur dégagée par la fixation de l'oxygène ou de l'oxyde de carbone sur l'hémoglobine: 1,85 calorie pour 1,34 cent. cube d'oxygène fixé.

Meyer et Gottlieb (1918) estiment que l'affinité de l'oxyde de carbone pour l'hémoglobine est 200 fois plus grande que celle de l'oxygène. La mort de l'homme survient lorsque le sang est saturé d'oxyde de carbone dans la proportion de 60 à 70 %. Pour les oiseaux la proportion est abaissée à 50 ou 60 %; pour les lapins, la mort survient lorsque le sang est saturé de 80 à 90 %.

Les mêmes auteurs remarquent que les souris supportent par un temps très froid une quantité d'oxyde de carbone qui serait toxique dans les circonstances ordinaires. Les souris par suite de l'abaissement de température, réduiraient l'hématose à un minimum comme les animaux hibarnants en sorte que le peu d'oxyhémoglobine non transformée en carboxyhémoglobine leur suffit.

Oppenheimer C. (1919) trouve l'affinité de l'oxyde de carbone pour l'hémoglobine 100 fois plus grande que celle de l'oxygène.

Balthazard M. (1919) dans son étude du mécanisme de l'intoxication par l'oxyde de carbone écrit (p. 119): «L'hémoglobine oxycarbonée abandonne facilement son oxyde de carbone en présence de l'oxygène in vivo et in vitro. »

IV. Réducteurs.

Dragendorff (1868) décrit ainsi dans son traité de toxicologie l'emploi du sulfure d'ammonium dans la recherche de la carboxyhémoglobine: « En ajoutant quelques gouttes de sulfure d'ammonium au sang très dilué et oxycarboné, les deux bandes d'absorption ne disparaissent pas, même après quelques jours. »

Babst A. (1876) propose pour la première fois l'emploi de l'hydrosulfite de soude pour la réduction de l'oxyhémoglobine: « Le sang étendu d'eau, puis additionnée de quelques gouttes de ce réactif jusqu'à coloration très brune, donne la bande uniquement dans le vert. »

Classen A. (1881) dans la même recherche prescrit l'addition: « à du sang dilué 40 fois, de sulfure d'ammonium. »

Lewin L. (1885) recommande l'addition à du sang normal d'une substance réductrice telle que le sulfure d'ammonium, sans donner d'autres précisions.

Cherbuliez (1890) conseille de verser quelques gouttes de sulfhydrate d'ammonium dans la cuve contenant le sang.

Vitali (1893) recherche la carboxyhémoglobine comme suit: « On verse 5 à 6 gouttes de sang dans un tube à essais, rempli aux trois quarts d'eau; si on ajoute une ou deux gouttes de sulfure d'ammonium, la couleur du sang sans oxyde de carbone change, surtout si on a soin de chauffer à 40°, et une seule bande d'absorption se forme. »

Baumert (1893) parlant de l'emploi des réducteurs prescrit d'employer par exemple: « Quelques gouttes de sulfure d'ammonium. »

Ogier J. (1899) se sert aussi du sulfure d'ammonium: « Une ou deux gouttes par cent. cube de solution diluée suffisent à produire la réduction; toutefois cette réduction n'est pas immédiate; c'est au bout de une à cinq minutes que l'on

voit les bandes obscures s'estomper, s'affaiblir peu à peu et faire place à la bande unique de l'hémoglobine réduite. » Plus loin, l'auteur ajoute: « Trop étendue ou en trop petite dose, il ne réduit que lentement. En réalité, le sulfhydrate est presque toujours suffisant et on l'utilise de préférence parce que c'est un réactif qu'on a toujours sous la main. »

Deniges G. (1903) a propos de l'oxyde de carbone, écrit: « Agité avec une petite quantité de sang, il donne de la carboxyhémoglobine, dont les deux bandes d'absorption spectrale ne sont pas modifiées par addition d'un réducteur (hydrosulfite sodico-zincique.). »

Formanek J. (1905): « Si on ajoute au sang un sulfure d'ammonium qui renferme beaucouq d'ammoniaque, il se forme de l'hémochromogène. Le spectre de l'hémoglobine réduite se forme seulement, si on a employé du sulfure d'ammonium vieux et jaune, ou bien un sulfure d'ammonium préparé par saturation complète de l'ammoniaque par l'hydrogène sulfuré. »

Gilbert et Thoinot (1910) s'occupant des bandes spectrales de l'oxyhémoglobine écrivent: « Les deux bandes s'estompent sur leurs bords et, s'étalent en une raie unique, si on ajoute à la solution sanguine un corps réducteur: une goutte de sulfhydrate d'ammoniaque par exemple. »

Letsche E. (1910) rapporte l'observation de Curtius à propos de l'hydrazine: « Les bandes d'absorption d'une dilution aqueuse de sang disparaissent presque instantanement si on y ajoute une solution d'un sel d'hydrazine. »

Autenrieth W. (1911): « Si on a vu les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, on ajoute un peu de sulfure d'ammonium pour obtenir la bande large et diffuse de l'hémoglobine. »

Fonzes-Diacon (1912): « Quand on voudra constater l'absence de la bande de Stokes par addition de sulfure d'ammonium, on ne sera pas étonné de la voir apparaître car

elle proviendrait de la réduction de l'oxyhémoglobine qui existait encore en grande quantité dans le sang. »

Bertrand G. et Thomas (1913) conseillent l'emploi de l'hydrosulfite de soude.

Thoinot L. (1913) ajoute une goutte de sulfure d'ammonium par cent. cube de sang dilué de façon à lui donner une couleur « fleur de pêcher » et fait l'observation après dix minutes de contact en évitant l'agitation.

Lochte Th. (1914): « Le mieux est de l'avoir toujours frais. Le sulfhydrate acide d'ammonium réduit plus énergiquement que le sulfure neutre d'ammonium. »

Ronchese (1915): « Traitée par les réducteurs, le sulfhydrate d'ammoniaque par exemple, l'oxyhémoglobine perd son oxygène et se transforme en hémoglobine. »

Le Formulaire Pharmaceutique des Hopitaux Militaires (1917) donne dans son tome III les conditions d'emploi de l'hydrosulfite de soude: « Les deux bandes caractéristiques de l'hémoglobine disparaissent par l'addition de 4 à 5 gouttes d'hydrosulfite sodico-zincique et sont remplacées par une seule bande occupant une position intermédiaire. » L'hydrosulfite employé est préparé extemporanément en traitant deux à trois cent. cubes de bisulfite de soude par quelques fragments de grenaille de zinc.

Barthe (1918): « Pour bien différencier les deux spectres on les soumet à l'action d'un agent réducteur comme le sulfure d'ammonium à 40°, le protochlorure d'étain, l'hydrosulfite de soude. »

CHAPITRE II.

Technique et Réactifs.

Dans ce chapitre nous donnerons les conditions exactes d'expérimentation dans lesquelles nous nous sommes placé, tant en ce qui concerne les hémoglobines étudiées, qu'en ce qui a trait aux réactifs et appareils employés.

Dilution des Hémoglobines étudiées.

Nos essais ont porté sur les hémoglobines des animaux suivants: Homme — Cheval — Mulet — Bœuf — Mouton — Chèvre — Porc — Cobaye — Lapin — Rat — Poule — Grenouille — Anguille — et Carpe.

Les sangs prélevés le matin à l'hôpital, à l'abattoir ou sur les animaux mêmes au laboratoire ont été recueillis dans un flacon contenant des perles de verre et bouché à l'émeri. Les sangs étaient soumis à l'agitation, pour éviter la coagulation en masse et assurer la séparation de la fibrine et des globules. La masse jetée sur une toile nous fournissait une suspension de globules dans du sérum.

La suspension de globules ainsi obtenue a été débarrassée du sérum par centrifugation et par des lavages répétés au moyen d'une solution de chlorure de sodium à 10 pour 1000. Le culot de globules lavés provenant de 3 cent. cubes de

sang a été porté à un volume variant de 150 cent. cubes à 180 cent. cubes avec de l'eau distillée. Pour le sang des animaux à sang froid, dont la richesse en globules et en hémoglobine est moindre, nous n'avons pas tenu compte dans notre dilution du volume du sang soumis à la centrifugation, mais seulement du volume du culot de globules obtenus. Dans le cas des animaux à sang froid comme dans le cas des animaux à sang chaud, la teneur en hémoglobine a été déterminée approximativement par la méthode colorimétrique de Gowers, et nos dilutions ont ramené sa teneur à un chiffre très voisin de ogr01 d'hémoglobine pour 5 cent. cubes de liquide. C'est sur cette dilution de globules hémolysés préparée le jour même que nous avons fait porter toutes nos expériences.

Comme on le verra dans la suite, le dosage rigoureux de l'hémoglobine ne s'imposait pas, l'action des divers réactifs employés n'étant pas en relation directe avec la quantité d'hémoglobine contenue dans le milieu.

La totalité de l'hémoglobine contenue dans la dilution se trouvait à l'état d'oxyhémoglobine en raison des nombreuses manipulations et agitations au contact de l'air.

Dans notre étude de la carboxyhémoglobine nous nous sommes servi de la même dilution globulaire dans laquelle nous avons fait passer jusqu'à refus un courant d'oxyde de carbone. La totalité de l'hémoglobine s'y trouvait à l'état de carboxyhémoglobine et les réducteurs ne modifiant pas les bandes spectrales, ne faisaient pas apparaitre, en particulier, la bande de Stokes. Nos dilutions globulaires représentent donc des liqueurs renfermant la totalité de l'hémoglobine et des autres corps contenus dans les globules.

La teneur de ogr01 d'hémoglobine pour 5 cent. cubes de liquide est celle qui nous a fourni les spectres les plus favorables à nos recherches.

Appareils utilisés.

1) *Mesure du temps.* — La mesure du temps dont nous avons fait un si grand usage, et sur laquelle reposent la plupart de nos déterminations, a été faite à l'aide d'un chronomètre.

2) *Étude spectrale.* — Nous nous sommes servi d'un spectroscope muni d'un spectre de comparaison, d'une échelle fournissant les longueurs d'onde des diverses radiations (voir p. 40) et permettant de situer exactement les bandes d'absorption caractéristiques des corps étudiés. Les indications fournies par cette échelle ont été vérifiées: la raie rouge du Lithium correspondait à 671, la raie jaune du Lithium à 610, la raie du Sodium à 589, la raie bleue du Strontium à 461. — Nos observations ont été faites à la lumière du jour et sur des dilutions contenues dans des vases à faces parallèles ayant 14 millimètres d'épaisseur.

3) *Appareil à températures constantes.* — La fixité de la température présentant une grande importance pour la plupart de nos expériences, nous avons cherché à réaliser un appareil permettant d'obtenir les températures les plus variées. Cet appareil se compose essentiellement (fig. 1):

A) d'un bain-marie dans lequel plonge une cuve en verre munie à la partie supérieure de deux ouvertures permettant d'introduire, outre les liquides dont nous parlerons plus loin, un thermomètre et l'extrémité inférieure d'un réfrigérant ascendant. Le couvercle de cette cuve est, en outre, traversé par un tube de verre mince, de 2 centimètres de diamètre intérieur, dans lequel on peut introduire un deuxième tube de diamètre moindre et un liquide (eau) assurant un contact intime entre les deux parois. Le tube intérieur reçoit la dilution sanguine dans laquelle on peut éventuellement faire barboter des gaz variés. La constance de la température de cette cuve est obtenue à l'aide de corps bouillant: Aldéhyde acétique à 21°;

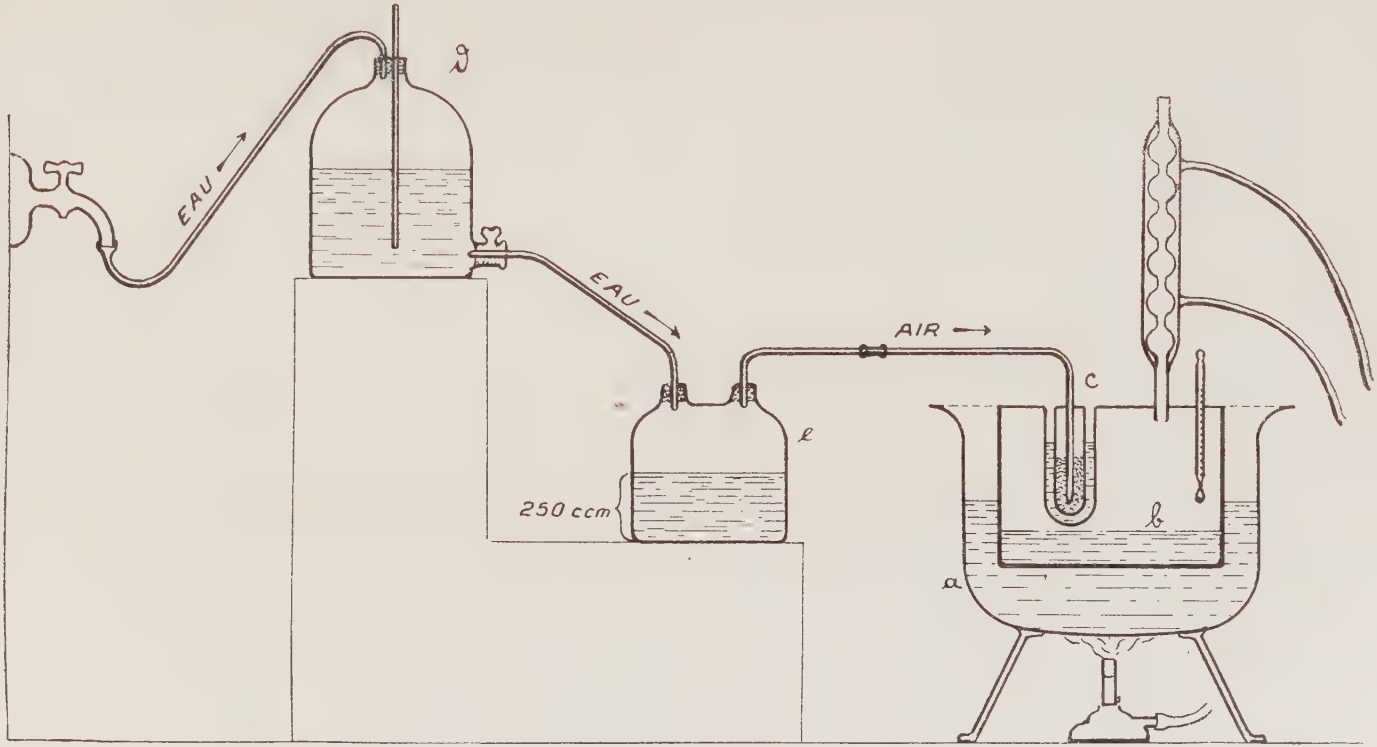


Fig. 1. Légende : a = *bain-marie*, b = *cuve à températures constantes*, c = *dispositif permettant le barbotage des gaz*, d = *vase de Mariotte*, e = *vase contenant les gaz*.

Ether officinal à 34°; Acétone à 56°. La température de la dilution sanguine étudiée était, pour l'éther et pour l'acétone un peu inférieure au point d'ébullition du liquide de la cuve (respectivement 32° et 52°). Ces températures ont donc été les mêmes pour toutes nos séries d'expériences. Les volumes des dilutions sanguines soumis aux essais étaient exactement de 5 cent. cubes et le niveau de l'eau assurant un contact intime entre les deux tubes était toujours le même que celui de la dilution sanguine contenue dans le tube intérieur.

La température constante de + 5° environ a été obtenue en plaçant le tube contenant la dilution sanguine dans de la glace grossièrement concassée et placée dans une toile métallique au dessus d'un vase à précipité.

B) D'un dispositif permettant d'assurer un barbotage régulier de bulles d'air, d'oxygène ou d'hydrogène. L'un de ces dispositifs se compose d'un vase de Mariotte alimenté par un robinet d'eau et communiquant par un tube avec un récipient à deux tubulures plein de gaz. Un robinet de réglage commande l'arrivée de l'eau et la sortie d'un égal volume de gaz. Nous avons aussi utilisé, particulièrement pour l'oxygène, un gazomètre dont nous avons régularisé le débit.

Réactifs utilisés.

Sulfure d'ammonium. — Le sulfure d'ammonium que nous avons employé a été préparé de la façon suivante: de l'ammoniaque concentrée a été traitée par un courant d'hydrogène sulfuré jusqu'à refus. Le sulfhydrate de sulfure formé a été ramené à l'état de sulfure d'ammonium neutre, par l'addition d'un égal volume d'ammoniaque. Le titrage du sulfure d'ammonium ainsi obtenu a été pratiqué par deux méthodes: 1) pesée du soufre à l'état de sulfate de baryte; 2) titrage au moyen d'une solution d'iode décinormale en présence de bicarbonate de soude. Le dosage ainsi effectué, nous avons dilué le réactif pour l'amener à la teneur de: 1 cent. cube = 0gr10 de sulfure neutre d'ammonium.

Hydrosulfite de Soude. — La solution aqueuse d'hydrosulfite pur étant altérable, nous avons cherché à nous procurer un réactif plus stable. Michel F. (1911) indique une formule qu'il a utilisée dans l'étude de l'hémochromogène. Le réactif de Michel se compose d'hydrosulfite de soude stabilisé par de l'alcool et de la soude caustique. Sa forte alcalinité entraîne la formation rapide d'hémochromogène aux dépens de l'oxyhémoglobine et présente de graves inconvénients lorsqu'on recherche la carboxyhémoglobine. Les spectres donnés à la p. 40 indiquent suffisamment l'intérêt qu'il y a à éviter la formation de l'hémochromogène. Nous avons cherché à déterminer accessoirement l'influence du degré d'alcalinité de la solution d'hydrosulfite quant à la production de l'hémochromogène et aux causes d'erreur qu'elle peut entraîner. Dans ce but nous avons préparé deux réactifs d'alcalinité différente dont voici les formules.

SOLUTION D'HYDROSULFITE DE SOUDE A:

Soude caustique pure	3	grammes
Hydrosulfite de soude sec . . .	2	»
Alcool à 90°	50	cent. cubes
Eau distillée	100	» »

SOLUTION D'HYDROSULFITE DE SOUDE B:

Hydrosulfite de soude	1	gramme
Potasse alcoolique décinormale .	50	cent. cubes
Eau distillée	100	» »

Réactif de Stokes. — Ce réactif a été préparé d'après la formule donnée par Vogel W. (1877) p. 322:

Sulfate ferreux	10	grammes
Acide tartrique	10	»
Ammoniaque	60	»
Eau distillée	100	»

Réactifs divers. — Le *chlorhydrate d'hydroxylamine, le sulfate d'atropine, l'urée, le glucose,* et *l'hydrate de chloral* ont été employés en solution aqueuse à 1/10. Le *chlorhydrate de morphine* a été utilisé en solution aqueuse à 1/25.

Conservation des réactifs. — Nos réactifs ont tous été conservés dans des éprouvettes cylindriques bouchées à l'émeri, munies d'un pied et d'un robinet à la partie inférieure. Pour empêcher l'oxydation des réducteurs, nous les avons soustraits au contact de l'air en maintenant à la surface des liquides une couche de deux centimètres d'huile de vaseline neutre. Les réactifs altérables, tels que le réactif de Stokes, la solution d'hydrosulfite de soude, etc., ont pû être conservés ainsi dans des conditions satisfaisantes.

CHAPITRE III.

Étude de l'action de quelques corps réducteurs et d'un gaz, l'hydrogène, sur les oxyhémoglobines.

On sait depuis longtemps que l'hémoglobine forme avec l'oxygène une combinaison, l'oxyhémoglobine, caractérisée par un spectre de deux bandes d'absorption caractéristiques situées en des points bien déterminés. HOPPE-SEYLER (1862) dans son étude des caractères spectraux de la matière colorante du sang écrit: « La solution aqueuse du sang de l'ablette, du testudo mauritanica, du pigeon, du chien, du bœuf, du mouton, du porc, se comporte quant aux bandes d'absorption spectrales de la même manière et il faut les considérer en général comme étant propres au sang des Vertébrés. » Nous confirmons les remarques de HOPPE-SEYLER relatives à l'identité des spectres fournis par le sang des animaux appartenant au groupe des Vertébrés. Nous avons déterminé exactement la position des deux bandes d'absorption principales fournies par les oxyhémoglobines des 14 animaux suivants: Homme — cheval — mulet — bœuf — mouton — chèvre — porc — lapin — cobaye — rat — poule — grenouille — anguille — et carpe — et nous n'avons constaté aucune différence.

Nous donnerons ici un tableau contenant un spectre continu coloré, avec les indications de longueur d'onde correspondant aux diverses radiations, et les spectres fournis par l'oxyhémoglobine et ses principaux composés ou dérivés. La longueur d'onde correspondant à chaque bande d'absorption est parfois représentée par deux chiffres indiquant les longueurs d'onde coïncidant avec les deux bords de chaque bande. La largeur des bandes variant avec la concentration en pigment sanguin, nous avons cru utile de fixer au milieu de chaque bande sa longueur d'onde caractéristique. En opérant ainsi, on n'a pas besoin, soit pour identifier soit pour vérifier un spectre sanguin de connaître la concentration. Cette dernière est d'ailleurs presque toujours inconnue dans la pratique.

Les principaux spectres sanguins avec l'indication en longueur d'onde du milieu de chaque bande d'absorption caractéristique:

I. Spectre solaire

II. Oxyhémoglobine: α=579$\mu\mu$ β=541$\mu\mu$

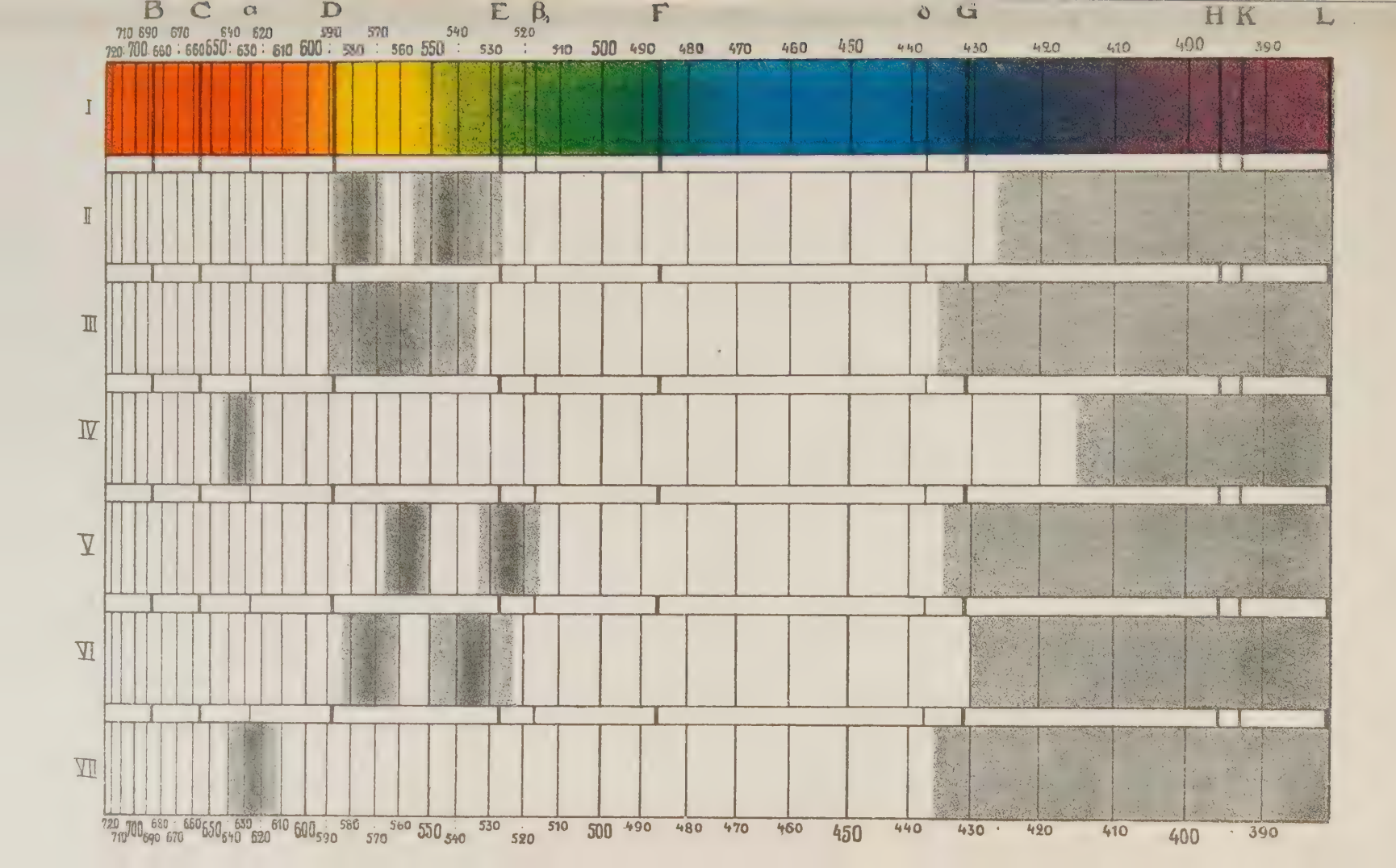
III. Hémoglobine réduite: 557$\mu\mu$

IV. Méthémoglobine neutre: 632$\mu\mu$

V. Hémochromogène: α=557$\mu\mu$ β=528$\mu\mu$

VI. Carboxyhémoglobine: α=571 β=537,5$\mu\mu$

VII. Sulfhémoglobine: 622$\mu\mu$


B C a D E β F δ G H K L
I
II
III
IV
V
VI
VII

A) ACTION DU SULFURE D'AMMONIUM SUR LES OXY-HÉMOGLOBINES[1]). — Nous avons déjà montré dans la partie de ce travail consacrée à la bibliographie que les auteurs, particulièrement les auteurs de traités de toxicologie, ne fixent pas les conditions de concentration ou de température dans lesquelles on doit faire agir le sulfure d'ammonium pour caractériser la présence de l'oxyhémoglobine ou de la carboxyhémoglobine. Nous nous sommes attaché à déterminer d'une façon aussi précise que cela nous a été possible:

1) l'influence de la concentration du milieu en sulfure d'ammonium.

2) l'importance de la température.

3) la part qui revient, dans les différences observées, à l'origine des hémoglobines: soit à l'espèce animale qui a fourni le sang.

Dans chacun des essais que nous allons décrire nous avons fait agir le réactif sur les dilutions sanguines:

1) au repos et pendant cinq minutes.

2) sur un milieu brassé pendant cinq minutes par un courant d'air (voir fig. 1) passant bulle par bulle à raison de 250 cent. cubes en 5 minutes et de 5 bulles environ par seconde. L'action du courant d'air a pour but de montrer que l'agitation des dilutions sanguines peut, si la quantité de réducteur est insuffisante, faire réapparaître les bandes d'absorption caractéristiques de l'oxyhémoglobine, temporairement remplacées par la bande de l'hémoglobine réduite (bande de Stokes). En un mot, nos essais ont eu pour but d'établir, pour diverses températures, les conditions limites de l'équilibre qui s'établit sous l'action d'un courant déterminé d'air entre l'action réductrice propre à la concentration en sulfure d'ammonium et l'affinité de l'hémoglobine

[1]) THONNARD J. (1920).

pour l'oxygène sous la forme où le présente l'air. Nous donnons ici, successivement, les tableaux réunissant les résultats de nos essais effectués sur 14 animaux au repos ou avec barbotage d'air et pour quatre températures: 5° — 21° — 32° et 52°.

Pour les températures de 5° et de 52°, les essais par barbotage d'air ayant présenté des difficultés particulières, nous n'avons consigné ici que les résultats obtenus au repos. Pour la température de 5°, le volume de réactif nécessaire était si considérable que la dilution de nos liquides enlevait aux spectres leur netteté. A 52°, des traces de réactif étaient suffisantes et d'autre part l'altération du réactif sous l'influence de l'air, à cette température élevée, s'opposait à toute détermination exacte.

Nous nous sommes assuré qu'aux températures de 21° et de 32° l'altération du sulfure d'ammonium par l'air en 5 minutes dans des conditions semblables n'intéresse qu'une quantité négligeable de ce réactif.

Teneur des dilutions sanguines en hémoglobine et en sels : Les méthodes d'expérimentation qui nous ont conduits aux résultats consignés dans nos tableaux comportent des facteurs invariables et variables. Parmi les facteurs invariables figurent: la température — les volumes des liquides soumis à l'action des réducteurs et la teneur de ces liquides en hémoglobine. L'unique facteur variable est la concentration en réducteur: il nous permet d'exprimer les résultats variés obtenus dans les divers cas.

Nous devons pourtant faire une réserve en ce qui concerne la concentration de nos dilutions en pigment sanguin. Cette concentration à été déterminée approximativement par la méthode colorimétrique de Gowers. Il ne nous a pas paru nécessaire d'effectuer un dosage rigoureux de l'hémoglobine (méthode ferrométrique, par exemple) dans nos dilutions sanguines, en raison des particularités suivantes: une même dilu-

tion d'hémoglobine prise : 1° pure — 2° additionnée de son volume d'eau distillée — 3° de deux fois son volume d'eau distillée, et dans chaque cas sous le volume de 5 cent. cubes, exige dans ces trois états de concentration la même quantité de réducteur. En d'autres termes, la quantité de sulfure d'ammonium nécessaire pour amener la réduction complète de l'oxyhémoglobine est, en principe, indépendante de la teneur des liquides en hémoglobine, et ne dépend que du volume de liquide soumis à l'essai. — De même, des teneurs variées du liquide sanguin en chlorure de sodium ne modifient pas les résultats.

Remarque. — Il n'est pas sans intérêt de noter que le sulfure d'ammonium, à la température de 32° et surtout à 52°, agit sur l'hémoglobine et peut en transformer une partie en sulfhémoglobine, caractérisée par une bande d'absorption située à gauche des bandes de l'oxyhémoglobine (voir tableau p. 40).

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite.*

Température de 5°.

Au repos.

Noms des animaux	Homme	Cheval	Bœuf	Mouton	Lapin	Cobaye	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes de sulfure d'ammonium	35	35	35	34	38	35	40	10	16	20
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent du mélange: liquide sanguin et réactif.	2,96	2,96	2,96	2,85	3,14	2,96	3,24	1,07	1,61	1,93

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium = 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Température de 21°.

Au repos:

Noms des animaux	Homme	Cheval	Bœuf	Mouton	Lapin	Cobaye	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes de sulfure d'ammonium	4	3	3	4	3	4	4	1	2	1
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent. du mélange: liquide sanguin et réactif	0,40	0,34	0,34	0,40	0,34	0,40	0,40	0,11	0,23	0,11

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium — 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Température de 21°.

Avec barbotage d'air:

Noms des animaux	Homme	Cheval	Bœuf	Mouton	Lapin	Cobaye	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes de sulfure d'ammonium	24	23	22	25	23	20	25	10	14	14
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent. du mélange: liquide sanguin et réactif	2,23	2,13	2,06	2,28	2,13	1,90	2,28	1,07	1,44	1,44

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium = 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration, en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Température de 32°.

Au repos:

Noms des animaux	Homme	Cheval	Mulet	Bœuf	Mouton	Chèvre	Porc	Lapin	Rat	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes[3]) de sulfure d'ammonium	9/21	8/21	8/21	7/21	7/21	8/21	8/21	8/21	8/21	11/21	4/21	4/21	6/21
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent. du mélange: liquide sanguin et réactif	0,033	0,029	0,029	0,025	0,025	0,029	0,029	0,029	0,029	0,039	0,015	0,015	0,022

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium non dilué = 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

[3]) Lorsque nous indiquons une fraction de gouttes, le numérateur de chaque fraction représente le nombre de gouttes d'une dilution du même sulfure d'ammonium au 1 : 21.

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration, en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Température de 32°.

Avec barbotage d'air:

Noms des animaux	Homme	Cheval	Mulet	Bœuf	Mouton	Chèvre	Porc	Lapin	Rat	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes de sulfure d'ammonium	4	4	3	4	3	4	3	4	4	6	2	1	2
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent. du mélange: liquide sanguin et réactif	0,47	0,47	0,36	0,47	0,36	0,47	0,36	0,47	0,47	0,69	0,25	0,11	0,25

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium = 17 gouttes = 0,10 gr sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

Tableau donnant le nombre de gouttes de sulfure d'ammonium[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *et la concentration en réactif nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Température de 52°.

Au repos:

Noms des animaux	Homme	Cheval	Bœuf	Mouton	Lapin	Rat	Poule	Grenouille	Anguille	Carpe
Nombre de gouttes[3]) de sulfure d'ammonium	2/21	3/21	2/21	2/21	2/21	3/21	2/21	2/21	2/21	2/21
Concentration en grammes de sulfure d'ammonium pour cent du mélange: liquide sanguin et réactif	0,007	0,011	0,007	0,007	0,007	0,011	0,007	0,007	0,007	0,007

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium non dilué — 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium.

[2]) voir p. 31.

[3]) Lorsque nous indiquons une fraction de gouttes, le numérateur de chaque fraction représente le nombre de gouttes d'une dilution du même sulfure d'ammonium au 1:21.

TABLEAU RÉCAPITULATIF *de l'action du sulfure d'ammonium*[1]) *sur les oxyhémoglobines. Conditions limites de la réduction, caractérisée par la disparition des deux bandes de l'oxyhémoglobine et par l'apparition de la bande de l'hémoglobine réduite:*

Essais sur 5 cent. cubes de liquide sanguin[2])	à 5°		à 21°				à 32°				à 52°	
	au repos		au repos		avec barbotage d'air		au repos		avec barbotage d'air		au repos	
	nombre de gouttes	sulfure pour cent	nombre de gouttes	sulfure pour cent	nombre de gouttes	sulfure pour cent	nombre de gouttes	sulfure pour cent	nombre de gouttes	sulfure pour cent	nombre de gouttes	sulfure pour cent
Homme	35	2,96	4	0,40	24	2,23	9/21	0,033	4	0,47	2/21	0,007
Cheval	35	2,96	3	0,34	23	2,13	8/21	0,029	4	0,47	3/21	0,011
Mulet							8/21	0,029	3	0,36		
Bœuf	35	2,96	3	0,34	22	2,06	7/21	0,025	4	0,47	2/21	0,007
Mouton	34	2,85	4	0,40	25	2,28	7/21	0,025	3	0,36	2/21	0,007
Chèvre							8/21	0,029	4	0,47		
Porc							8/21	0,029	3	0,36		
Cobaye	35	2,96	4	0,40	20	1,90	8/21	0,029	4	0,47	3/21	0,011
Lapin	38	3,14	3	0,34	23	2,13	8/21	0,029	4	0,47	2/21	0,007
Rat							8/21	0,029	4	0,47	3/21	0,011
Poule	40	3,24	4	0,40	25	2,28	11/21	0,039	6	0,69	2/21	0,007
Grenouille	10	1,07	1	0,11	10	1,07	4/21	0,015	2	0,25	2/21	0,007
Anguille	16	1,61	2	0,23	14	1,44	4/21	0,015	1	0,11	2/21	0,007
Carpe	20	1,93	1	0,11	14	1,44	6/21	0,022	2	0,25	2/21	0,007

[1]) 1 cent. cube de sulfure d'ammonium non dilué = 17 gouttes = 0,10 gr de sulfure d'ammonium. Lorsque nous indiquons une fraction de gouttes, le numérateur de chaque fraction représente le nombre de gouttes d'une dilution du même sulfure d'ammonium 1 : 21.

[2]) voir p. 31.

Un examen attentif des résultats que nous avons obtenus permet de constater: 1° que la stabilité des oxyhémoglobines vis-à-vis du sulfure d'ammonium diminue à mesure que la température s'élève; 2° l'insuffisance des quantités de réactif habituellement indiquées par les auteurs pour la recherche de la carboxyhémoglobine, du moins en ce qui concerne la température de 5° et aussi, par déduction, la température ordinaire de 15°. On devine facilement l'importance des erreurs qui ont pû résulter d'un semblable mode opératoire. 3° Que pour une température donnée, les oxyhémoglobines des animaux à sang chaud ont à l'égard du sulfure d'ammonium une stabilité beaucoup plus grande que les oxyhémoglobines des animaux à sang froid; 4° que la quantité de réducteur à employer est en principe indépendante de la teneur du liquide en hémoglobine.

B) ACTION DE L'HYDROSULFITE DE SOUDE SUR LES OXYHÉMOGLOBINES. — Ce réactif est trop sensible à l'action de l'air pour permettre de faire des essais aussi variés que pour le sulfure d'ammonium. Les expériences avec barbotage d'air, en particulier, ne peuvent conduire pratiquement à aucun résultat intéressant. C'est donc sur les liquides au repos que nous avons fait porter nos observations.

Le réactif employé est la solution d'hydrosulfite de soude B dont la formule a été donnée plus haut (p. 36).

Tableau donnant le nombre de gouttes de solution d'hydrosulfite de soude B[1] *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2] *pour faire disparaître au repos les deux bandes de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Les oxyhémoglobines des sangs des animaux ci-après: homme — bœuf — mouton — lapin — poule

---

[1]) voir p. 36; 20 gouttes = 1 cent. cube.

[2]) voir p. 31.

grenouille — tanche — nous ont conduit, pour les quatre températures étudiées aux mêmes résultats:

TEMPÉRATURES	5°	21°	32°	52°
Nombre de gouttes de réactif	4 à 5	4	2	2

Remarques. — Nous n'avons pas cru devoir donner ici les concentrations de nos liquides en hydrosulfite 1°) en raison de l'altérabilité du réactif dont nous ne connaissions qu'approximativement la teneur en hydrosulfite pur; 2°) à cause de la grande énergie réductrice de l'hydrosulfite et de l'influence relativement faible exercée par la température sur son action à l'égard de l'oxyhémoglobine. En effet, tandis qu'à 5°, l'oxyhémoglobine n'est réduite que par une quantité de sulfure d'ammonium environ 300 fois plus grande qu'à 52°, ce même pigment sanguin est reduit à 5° par des quantités d'hydrosulfite simplement doubles de celles qu'exige la température de 52°.

C) ACTION DU RÉACTIF DE STOKES SUR LES OXYHÉMOGLOBINES. — La sensibilité de ce réactif à l'action de l'oxygène n'a pas permis de faire des essais par barbotage d'air.

Tableau donnant le nombre de gouttes de réactif de STOKES[1]) *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *au repos pour faire disparaître les deux bandes de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite:*

Les oxyhémoglobines des sangs des animaux ci-après: Homme — bœuf — mouton — lapin — poule — grenouille — anguille et carpe — nous ont conduit,

[1]) 1 cent. cube = 28 gouttes. voir p. 36.

[2]) voir p. 31.

pour les quatre températures étudiées, aux mêmes résultats :

TEMPÉRATURES	5°	21°	32°	52°
Nombre de gouttes de réactif	2 à 3	2 à 3	2 à 3	2 à 3

Les remarques faites à propos de l'action de l'hydrosulfite sur les oxyhémoglobines s'appliquent au réactif de STOKES. Pour ce dernier, l'énergie réductrice est telle que nous n'avons observé aucune différence dans les quantités de réactif nécessaires pour les quatre températures étudiées.

D) ACTION DU CHLORHYDRATE D'HYDROXYLAMINE SUR LES OXYHÉMOGLOBINES. — L'hydroxylamine et ses sels sont des réducteurs très puissants; cependant leur action sur les oxyhémoglobines ne présente pas, au point de vue spectral, les caractères déjà décrits à propos des réactifs indiqués.

Letsche E. (1912) signale que l'hydroxylamine agissant sur l'oxyhémoglobine forme de la méthémoglobine avec dégagement d'azote. En fait, dans la plupart de nos essais, nous avons vu disparaître les deux bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine et apparaître la bande caractéristique de la méthémoglobine. (voir tableau p. 40) Nous n'avons jamais pu constater nettement l'apparition de la bande de l'hémoglobine réduite.

Tableau donnant le nombre de gouttes[1] *de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine*[2] *à ajouter à 5 cent. cubes de dilution sanguine*[3] *au repos, pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine :*

TEMPÉRATURES	5°	21°	32°
LAPIN	40	4	2
ANGUILLE	5	2	1

[1]) 1 cent. cube = 20 gouttes.
[2]) voir p. 37.
[3]) voir p. 31.

E) RÉACTIFS DIVERS. — Les solutions de sulfate d'atropine, de chlorhydrate de morphine, d'urée, de glucose, d'hydrate de chloral, à des concentrations élevées (voir p. 37) se comportent comme des réducteurs très faibles. Pour la plupart d'entre eux le volume de solution nécessaire pour réduire l'oxyhémoglobine est tel que la dilution des liquides fait perdre aux spectres leur netteté.

F) INFLUENCE DE L'ALCALINITE DES SOLUTIONS DE CORPS RÉDUCTEURS SUR LA FORMATION D'HÉMOCHROMOGÈNE AUX DÉPENS DE L'OXYHÉMOGLOBINE. — Si on traite l'oxyhémoglobine par l'eau chaude, par les acides, ou par les alcalis, à chaud et même à froid, elle se détruit en donnant une substance protéique, un pigment ferrugineux, l'hématine, et des acides gras (GAUTIER, 1897, p. 369). Dans un milieu entièrement privé d'oxygène et à plus forte raison en présence de réducteurs, suivant STOKES, l'hémoglobine se décomposerait sous l'influence des mêmes agents en donnant de *l'hémochromogène* ou *hématine réduite,* les autres termes de la réaction restant les mêmes.

Les spectres de l'hémochromogène et de la carboxyhémoglobine se distinguent surtout par une différence de position des deux bandes de chacun de ces spectres; ce qui pour un opérateur peu exercé peut entraîner des confusions.

Nous avons cherché à déterminer l'importance que présente l'alcalinité de deux réactifs: Le sulfure d'ammonium et l'hydrosulfite de sodium, en ce qui concerne la formation accidentelle d'hémochromogène au cours de la recherche de la carboxyhémoglobine.

Tableau des résultats obtenus dans l'étude de l'action combinée du sulfure d'ammonium[1]) *et de l'ammoniaque*[2]) *à quatre températures sur 5 cent.*

[1]) 1 cent. cube = 17 gouttes = 0gr10 de sulfure d'ammonium, voir p. 35. La fraction qui figure dans notre tableau représente le nombre de gouttes d'une dilution de sulfure à 1/21.

[2]) 1 cent. cube d'ammoniaque = 20 gouttes.

cubes de dilution sanguine[1]) *au repos. Les observations ont été faites après dix minutes de contact.*

Températures	Nombre de gouttes de sulfure d'ammonium	Nombre de gouttes d'ammoniaque à 6,8 o/o de gaz ammoniac	Résultats
5°	30	30	pas d'hémochromogène
21°	5	30	pas d'hémochromogène
32°	5	30	pas d'hémochromogène
52°	2/21	5	hémochromogène

[1]) obtenu avec le sang de l'homme, voir p. 31.

Ce tableau montre qu'à la température de 52°, il suffit d'ajouter une petite quantité d'ammoniaque au mélange de la dilution sanguine avec le sulfure d'ammonium, pour provoquer la formation d'hémochromogène:

Tableau des résultats obtenus dans l'étude de l'action d'une solution d'hydrosulfite de sodium alcalinisée[1]*, à quatre températures, sur 5 cent. cubes de dilution sanguine*[2]) *au repos. Les observations ont été faites, après 10 minutes de contact.*

Températures	Nombre de gouttes d'hydrosulfite A	Résultats
5°	45	Hémochromogène
21°	25	Hémochromogène
32°	12	Hémochromogène
52°	5	Hémochromogène

Le calcul montre que pour la température de 52° il suffit d'ajouter 0gr0025 de KOH à 5 cent. cubes de dilution sanguine pour obtenir la transformation de l'hémoglobine en hématine et la réduction ultérieure de ce dernier corps par l'hydrosulfite.

[1]) voir hydrosulfite A, p. 36. — 1 cent. cube = 40 gouttes.

[2]) obtenue avec du sang humain ou du sang de bœuf.

G) VIEILLISSEMENT DU SANG. — Les dilutions sanguines, conservées en l'absence d'antiseptiques, sont le siège de fermentations microbiennes qui aboutissent à la production de corps réducteurs. Sous l'influence de ces corps, l'oxyhémoglobine passe au bout d'un certain temps à l'état d'hémoglobine réduite; les liquides d'un rouge vif prennent une coloration rouge pourpre. L'influence des bactéries a été mise en relief par l'expérience suivante:

1° une dilution sanguine a été abandonnée au contact de l'air: les bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine ont disparu au bout d'un certain temps.

2° un égal volume de la même dilution a été saturé de chloroforme par agitation au contact d'un excès de ce réactif: dans ce dernier cas les bandes de l'oxyhémoglobine ont persisté, ainsi que la coloration rouge vif.

3° une prise d'essai identique a été abandonnée à elle-même jusqu'à disparition des bandes de l'oxyhémoglobine. A ce moment, nous avons ajouté du chloroforme. L'agitation au contact de l'air a entraîné la réoxydation de l'hémoglobine réduite et la formation d'oxyhémoglobine. Nous avons alors couvert le liquide d'une couche d'huile de vaseline destinée à prévenir l'évaporation du chloroforme. Les deux bandes de l'oxyhémoglobine et la coloration rouge vif ont persisté ensuite pendant toute la durée de notre observation (soit un mois au moins). — Ces remarques ont peut être déjà été faites sous d'autres formes; mais nous croyons utile de retenir l'attention sur ce point qui montre l'utilité réelle d'utiliser du sang très frais, dans des expériences de ce genre. Sans cette précaution, on s'expose à observer, non seulement les effets des réducteurs essayés sur les hémoglobines, mais encore ceux des corps réducteurs élaborés par les bactéries au cours de l'altération des dilutions sanguines.

H) ACTION DE L'HYDROGÈNE SUR LES OXYHÉMOCLOBINES[1]). — On sait depuis longtemps que les gaz inertes

[1]) P. Lavialle et J. Thonnard (1920).

peuvent déplacer l'oxygène de l'hémoglobine et transformer cette dernière en hémoglobine réduite. Les expériences les plus précises sur ce point sont dues à Barcroft J. et Hill W. (1910). Nous résumerons ici les expériences de ces deux auteurs qui ont porté sur l'action de l'azote à l'égard d'une dilution d'oxyhémoglobine dont l'origine n'est pas indiquée. Ils ont fait agir sur une solution d'oxyhémoglobine de concentration indéterminée un courant continu d'azote passant bulle par bulle dans la solution. Les observations ont été faites à deux températures: 18° et 38°; le liquide était couvert d'une couche d'huile. La constance de la température a été à peu près réglée par immersion du récipient contenant le sang dans un bain-marie. Dans une première expérience, à 18°, les auteurs constatent après 35 minutes, à l'aide de la pompe, que la saturation de l'oxyhémoglobine s'est abaissée de 100% à 94 %. Dans une deuxième expérience faite à 38°, l'abaissement de la saturation de 100% à 94% s'est effectué en 2 minutes 6 secondes. Les auteurs concluent de ces expériences que la rapidité de la dissociation de l'oxyhémoglobine est, à 38°, quatorze fois plus grande qu'à 18°.

On remarquera que Barcroft et Hill n'indiquent ni l'intensité réelle du débit du courant gazeux, ni l'origine de l'hémoglobine, ni la concentration des solutions en hémoglobine et que leur thermostat permet de légères variations de la température. En outre, ils ne poussent pas la dissociation de l'oxyhémoglobine jusqu'à sa transformation complète en hémoglobine réduite, et se servent de la pompe pour extraire les gaz.

Dans nos essais nous avons apporté plus de précision. Nous avons fixé à un litre en cinq minutes le débit du courant gazeux (hydrogène). Nous avons déterminé approximativement, par la méthode colorimétrique de Gowers la concentration en hémoglobine et avons fait porter nos recherches sur des dilutions de concentration sensiblement égale, bien que, comme on le verra plus loin, la teneur en hémoglobine n'influence

pas sensiblement les résultats. L'origine de l'hémoglobine a été prise en considération, fait important pour la différenciation des hémoglobines des animaux à sang chaud de celles des animaux à sang froid. La constance de la température a été assurée par l'appareil décrit plus haut (p. 33). Enfin, nous avons poussé nos expériences jusqu'à la transformation presque complète de l'oxyhémoglobine en hémoglobine, en nous aidant du spectroscope comme appareil de contrôle: on sait que le spectroscope révèle la présence de l'oxyhémoglobine dans un mélange d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine réduite qui n'en renferme que 0,50%. Le tableau suivant indique en minutes le temps nécessaire pour faire disparaître les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et pour faire apparaître la bande de l'hémoglobine réduite.

Résultats obtenus par l'action d'un courant d'hydrogène pur (1 litre en 5 minutes) sur 5 cent. cubes d'une dilution d'oxyhémoglobine[1]*) pour quatre températures:*

TEMPÉRATURES	HOMME		BOEUF		CARPE	
	Temps	Résultats	Temps	Résultats	Temps	Résultats
5°	30 minutes	Oxyhémogl.	30 minutes	Oxyhémogl.	30 minutes	Oxyhémogl.
21°	30 minutes	Oxyhémogl.	30 minutes	Oxyhémogl.	4 minutes	Hémoglobine
32°	5 minutes	Hémoglobine	5 minutes	Hémoglobine	1 m. 40 s.	Hémoglobine
52°	1 m. 20 s.	Hémoglobine	1 m. 30 s.	Hémoglobine	30 s.	Hémoglobine

[1]) voir p. 31.

Ces résultats confirment les recherches de Barcroft et d'autres auteurs en ce qui concerne la stabilité de l'oxyhémoglobine: cette stabilité décroît à mesure que la température s'élève; quant à l'oxyhémoglobine de la carpe et vraisemblablement de tous les animaux à sang froid, nos recherches confirment les conclusions de Krogh basées sur d'autres méthodes: l'oxyhémoglobine des animaux à sang froid est, dans des conditions identiques, beaucoup moins stable vis-à-vis de l'hydrogène que l'oxyhémoglobine des animaux à sang chaud.

Remarques. 1) La teneur de la dilution en hémoglobine peut varier dans des proportions considérables sans changer les résultats obtenus. Ceux-ci sont les mêmes pour des dilutions contenant des quantités d'hémoglobine variant de 1 partie à 4 parties dans le même volume de liquide. 2) La teneur en sels peut également varier sans changer les résultats. Voici l'expérience faite sur ce point: deux prises d'essai de 5 cent. cubes faites sur une même dilution d'oxyhémoglobine ont été soumises dans deux tubes à l'action d'un courant d'hydrogène dans les conditions habituelles de nos expériences. L'un des deux tubes a été additionné de 0gr20 de chlorure de sodium pur. Le temps nécessaire pour la réduction de l'oxyhémoglobine a été le même dans les deux cas.

CHAPITRE IV.

Étude de l'action de l'oxygène et de l'hydrogène sur les carboxyhémoglobines.[1])

Dans la partie de ce travail consacrée à la bibliographie, nous avons énuméré et analysé les principaux travaux relatifs à l'action de l'oxygène et des gaz inertes sur la carboxyhémoglobine.

Hoppe-Seyler (1857) étudiant l'action de l'oxygène sur la carboxyhémoglobine déclare que le spectre de ce dernier corps n'est pas modifié.

Donders (1872) dans une étude sur ce même sujet remarque que du sang défibriné et oxycarboné traité par un courant d'oxygène à la température de 5° perd de l'oxyde de carbone. L'hydrogène et l'anhydride carbonique le conduisent au même résultat. Donders constate encore que l'action de l'hydrogène est fortement influencée par l'élévation de la température.

Piotrowski, de son côté, signale que l'air barbotant dans du sang oxycarboné prive peu à peu ce sang d'oxyde de carbone.

Podolinski constate de même que l'oxyde de carbone du sang oxycarboné peut être libéré par un courant d'hydrogène. Podolinski signale que l'air agit plus vite que l'hydrogène.

[1]) THONNARD J. (1920)

Grehant constate que les inhalations d'oxygène à peu près pur dans l'intoxication oxycarbonée provoquent une diminution considérable de la quantité d'oxyde de carbone contenue dans le sang.

On remarque qu'aucun des auteurs qui viennent d'être cités ou de ceux qui figurent dans notre bibliographie ne fixe rigoureusement les conditions de température, de débit gazeux, et n'indiquent pas toujours l'origine de l'hémoglobine.

Nous avons appliqué à l'étude de l'action de l'oxygène et de l'hydrogène sur la carboxyhémoglobine la méthode déjà décrite pour l'oxyhémoglobine; c'est-à-dire que nous avons fixé dans des conditions invariables de température, de débit gazeux et de concentration en hémoglobine, le minimum de temps nécessaire pour: 1) avec l'oxygène, décomposer complètement la carboxyhémoglobine avec formation d'oxyhémoglobine réductible; 2) avec l'hydrogène, décomposer la carboxyhémoglobine avec formation d'hémoglobine réduite.

Résultats obtenus par l'action d'un courant d'oxygène pur (1 litre en 5 minutes) sur 5 cent. cubes d'une dilution de carboxyhémoglobine[1]) *pour quatre températures:*

TEMPÉRATURES	HOMME		BOEUF		CARPE	
	Temps	Résultats	Temps	Résultats	Temps	Résultats
5°	30 minutes	Carboxyhém.	30 minutes	Carboxyhém.	19 minutes	Oxyhémogl.
21°	20 minutes	Oxyhémogl.	20 minutes	Oxyhémogl.	10 minutes	Oxyhémogl.
32°	10 minutes	Oxyhémogl.	10 minutes	Oxyhémogl.	5 minutes	Oxyhémogl.
52°	5 minutes	Oxyhémogl.	5 minutes	Oxyhémogl.	2 minutes	Oxyhémogl.

[1]) voir p. 31.

Remarques. — 1) La teneur de nos dilutions en carboxyhémoglobine peut varier dans des proportions considérables, sans changer les résultats obtenus. Ceux-ci sont les mêmes pour des dilutions contenant des quantités d'hémoglobine variant de 1 à 5 parties dans le même volume de liquide.

2) La teneur en sels peut également varier sans changer les résultats. Voici l'expérience faite sur ce point: deux prises d'essai de 5 cent. cubes, faites sur une même dilution de carboxyhémoglobine, ont été soumises dans deux tubes à l'action d'un courant d'hydrogène dans les conditions habituelles de nos expériences. L'un des deux tubes a été additionné de 0gr20 de chlorure de sodium pur. Le temps nécessaire pour le déplacement de l'oxyde du carbone a été le même dans les deux cas.

Les résultats consignés dans le tableau qui précède confirment les observations relatives à l'influence de la température sur la stabilité de la carboxyhémoglobine à l'égard de l'oxygène. Ils montrent en outre que la carboxyhémoglobine préparée avec le sang de carpe est, dans les mêmes conditions de température et de débit gazeux, beaucoup moins stable que les carboxyhémoglobines préparées avec le sang des animaux à sang chaud.

Résultats obtenus par l'action d'un courant d'hydrogène pur (1 litre en 5 minutes) sur 5 cent. cubes d'une dilution de Carboxyhémoglobine[1]) *pour quatre températures:*

TEMPÉRATURES	HOMME		BOEUF		CARPE	
	Temps	Résultats	Temps	Résultats	Temps	Résultats
5°	30 minutes	Carboxyhém.	30 minutes	Carboxyhém.	30 minutes	Carboxyhém
21°	30 minutes	Carboxyhém.	30 minutes	Carboxyhém.	29 minutes	Hémoglobine
32°	30 minutes	Carboxyhém.	30 minutes	Carboxyhém.	15 minutes	Hémoglobine
52°	15 minutes	Hémoglobine	15 minutes	Hémoglobine	3 minutes	Hémoglobine

[1]) voir p. 31.

Les résultats qui précèdent confirment les observations relatives à l'influence de la température sur la stabilité de la carboxyhémoglobine à l'égard de l'hydrogène. Ils montrent en outre que la carboxyhémoglobine préparée avec le sang de carpe est, dans les mêmes conditions de température et de débit gazeux, beaucoup moins stable que les carboxyhémoglobines préparées avec les sangs des animaux à sang chaud.

Considérations générales et Conclusions.

Si le sang et l'hémoglobine ont suscité un grand nombre de travaux, notre historique, qui réunit seulement les principaux d'entre eux, montre que l'accord est loin de s'être établi sur beaucoup de points.

En ce qui concerne l'action des réducteurs et des gaz inertes sur les oxyhémoglobines, les faits suivants sont réellement acquis:

1° Les oxyhémoglobines des Vertébrés sont toutes caractérisées par le même spectre.

2° Sous l'influence des réducteurs (sulfure d'ammonium, hydrosulfite de soude, réactif de STOKES, etc.), les deux bandes spectrales caractéristiques des oxyhémoglobines disparaissent et sont remplacées par une bande unique occupant une position intermédiaire: hémoglobine.

3° Les gaz inertes (hydrogène, azote) agissant sur les solutions d'oxyhémoglobine, peuvent dans certaines conditions entraîner l'oxygène et réduire complètement les oxyhémoglobines. Les deux bandes spectrales sont ici, comme dans l'action des réducteurs, remplacées par une seule bande intermédiaire: hémoglobine.

Quant aux carboxyhémoglobines, l'accord existe sur les points suivants:

1° Les réducteurs (sulfure d'ammonium, hydrosulfite de soude, réactif de STOKES, etc) sont sans action sur les carboxyhémoglobines.

2° L'oxygène peut déplacer dans certaines conditions, l'oxyde de carbone et transformer les carboxyhémoglobines en oxyhémoglobines.

3° Un courant de gaz inerte (hydrogène, azote) peut libérer l'oxyde de carbone des carboxyhémoglobines.

Les réducteurs et les gaz agissent sur les oxyhémoglobines et sur les carboxyhémoglobines avec d'autant plus d'énergie que la température est plus élevée.

Les stabilités relatives des oxyhémoglobines et des carboxyhémoglobines ont fait l'objet d'un assez grand nombre de recherches, surtout en Angleterre. Les déterminations ont été faites à l'aide de la pompe. L'analyse de ces travaux montre que les auteurs sont loin d'être d'accord et qu'il est impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de distinguer avec certitude les hémoglobines des vertébrés. KROGH, seul, signale nettement que, pour les poissons, la tension de dissociation de l'oxyhémoglobine est à +15° presque aussi grande que chez les mammifères à 37°.

Des expériences qui ont fait l'objet de notre travail, on peut dégager les conclusions suivantes :

a) La stabilité des oxyhémoglobines vis-à-vis du sulfure d'ammonium diminue à mesure que la température s'élève.

b) Cette stabilité a été étudiée, dans le détail, pour quatorze animaux et pour quatre températures.

c) Les quantités de sulfure d'ammonium habituellement prescrites par les traités classiques de toxicologie dans la recherche de la carboxyhémoglobine, sont insuffisantes pour la température de 5° et même pour la température de 15°.

d) Pour une même température, les oxyhémoglobines des animaux à sang chaud ont, à l'égard du sulfure d'ammonium, une stabilité beaucoup plus grande que les oxyhémoglobines, des animaux à sang froid. La stabilité des oxyhémoglobines des animaux à sang chaud, est représentée par des chiffres

très voisins, et ne permet aucune différenciation des espèces animales étudiées.

e) La quantité de réducteur à employer est, en principe, indépendante de la teneur des liquides en hémoglobine.

f) Nous avons déterminé l'action réductrice des réactifs suivants sur les oxyhémoglobines: hydrosulfite de soude, réactif de STOKES, hydroxylamine, atropine, urée, glucose, hydrate de chloral.

g) Nous avons déterminé l'importance que présente l'alcalinité de deux réactifs: sulfure d'ammonium, et hydrosulfite de soude, en ce qui concerne la formation accidentelle de l'hémochromogène au cours de la recherche de la carboxyhémoglobine.

h) Le phénomène de la putréfaction du sang a été étudié, dans ses rapports avec la réduction de l'oxyhémoglobine.

i) L'influence d'un courant réglé d'hydrogène sur les oxyhémoglobines et sur les carboxyhémoglobines a montré:

1) que les carboxyhémoglobines sont, conformément aux autres données, plus stables que les oxyhémoglobines;

2) que les oxyhémoglobines et les carboxyhémoglobines des animaux à sang chaud sont beaucoup plus stables que celles des animaux à sang froid.

j) Nous avons étudié dans le détail l'action de l'oxygène sur les carboxyhémoglobines: les carboxyhémoglobines des animaux à sang chaud sont beaucoup plus stables, vis-à-vis de l'oxygène, que les carboxyhémoglobines des animaux à sang froid.

Vu et bon à imprimer:
Strasbourg, le 28 mai 1920.
Le Président de la Thèse,
P. LAVIALLE.

Vu et approuvé:
Strasbourg, le 29 mai 1920.
Le Doyen de la Faculté,
F. JADIN.

Vu et permis d'imprimer:
Strasbourg, le 30 mai 1920.
Le Recteur,
S. CHARLETY.

Bibliographie.

Abderhalden E. — *Biochem. Handlexikon*, Berlin 1906, VI. Band, S. 193.

D'Arsonval A. — *Photographie des spectres d'absorption de l'hémoglobine Arch. de Physiologie*, 5 S. II. page 343, Avril 1890.

Authenrieth W. — *Chemie des Harns*, p. 293 et 314, Tübingen 1911.

Babst A. — *Sur l'hémoglobine reduite au moyen de l'hydrosulfite de soude.* C. r. de la Société de Biologie. Décembre 1876, p. 403.

Balthazard M. — *Le mécanisme de l'intoxication par l'oxyde de carbone.* Résumé in Monde Médical, 1919, N° 553, p. 119.

Barcroft J. et Camis M. — *The dissociation curve of blood, Journ. of Physiology 1909*, t. XXXIX, p. 118, 1909.

Barcroft J. et Hill V. — *The nature of oxyhæmoglobin, with a note on its molecular weight.* Journ. of Physiology 1910, N° 6, p. 411.

Barcroft J. et King R. — *The effect of temperature on the dissociation curve of blood.* Journ. of Physiology 1919, t. XXXIX, p. 374.

Barcroft J. et Roberts F. — *The dissociation curve of hæmoglobin.* Journ. of Physiology 1919, t. XXXIX., p. 143.

Bardachzi F. — *Einige Erfahrungen über die Zersetzung des Blutfarbstoffes.* Zeitschrift für physiolog. Chemie 1910, N° 70, S. 206 und 208.

Barthe L. — *Toxicologie,* Paris 1918, p. 165.

Baumert G. — *Lehrbuch der gerichtl. Chemie. Braunschweig 1893,* p. 172.

Beaunis H. — *Physiologie humaine.* Paris 1881, p. 245.

Béhal A. — *Traité de chimie organique II,* Paris 1911, p. 1116.

Bert M. — *C. r. de la Soc. de Biologie 1875,* p. 103.

Bertin-Sans H. — *Etudes sur la méthémoglobine,* Thèse méd., Montpellier, Avril 1888.

Bohn G. — *L'évolution du pigment,* Scientia, Février 1901, p. 29.

Bohr Chr. — *Centralblatt für Physiologie,* August 1890, Bd. IV. N° 9, S. 250.

Du Bois-Raymond. — *Ueber die Wärmeentwickelung bei der Bindung von Sauerstoff an Hämoglobin.* Arch. f. Anat. und Physiol. 1914, S. 237.

Budge J. — *Compendium de Physiologie hum.,* 1874, p. 267.

Cherbuliez E. — *Etude spectrophotométr. du sang oxycarboné. Applications médico-légales.* Thèse méd. Paris 1890.

Classen Al. — *Handbuch der gerichtl. Chemie,* Berlin 1881, S. 280 und 322.

Claude Bernard. — *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses,* Paris 1857, p. 181, 183 et 195.

Delbert P. — *La science et la réalite,* Paris 1916. p. 19.

Denigès G. — *Précis de chimie analytique,* Paris 1903, p. 106.

Donders C. — *Der Chemismus der Atmung. ein Dissociationsprocess. Archiv für die gesamte Physiologie von Pflüger W.*, 1872, V. Bd., S. 23.

Dragendorff. — *Manuel de Toxicologie 1875*, p. 667.

Duval Math. — *Cours de Physiologie*, Paris 1887, p. 192.

Eulenberg. — *Die Lehre von den schädlichen und giftigen Gasen 1865*, S. 52.

Fleig C. — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, Paris, Juillet 1910, p. 67 et 541.

Florence Alb. — *Les taches de sang*, Thèse méd., Lyon, Mars 1885, p. 100.

Fonzes-Diacon. — *Précis de Toxicologie*, Paris 1912, p. 291.

Formanek J. — *Die qualitative Spectralanalyse*, Berlin 1905, p. 278.

Formulaire pharmaceut. des hôpitaux militaires, 1917. Tome II, p. 181.

Gautier A. — *Leçons de chimie Biologique*, Paris 1897, p. 350 et 363.

Gilbert A. et Thoinot L. — *Nouveau traité de médecine et de thérapeutique. Intoxications*, Paris 1910, Vol, XI, p. 74.

v. Gorup-Besanez. — *Physiol. Chemie*, Braunschweig 1862, p. 321.

Gréhant N. — *Traitement par l'oxygène, à la pression atmosphérique, de l'homme empoisonné par l'oxyde de carbone. Comptes rendus Académie des Sciences* 1901, N° 132, p. 574.

Haldane J. — *The relation of the action of carbonic oxide to oxygen tension.* Journ. of Physiology 1895, Vol. XVIII.

Harris F. and Creighton M. — *Studies on the Reductase of Liver and Kidney. Proceeding of the Royal Society of London,* Séries B. Vol. LXXXV. 1912, p. 486.

Hartridge H. — *The action of various conditions on carbon monoxyde hæmoglobin.* Journ. of Physiology 1912, p. 23.

Hénocque A. — *Traité de Physique Biologique; Spectroscopie biologique,* Tome II, 1901, p. 29 et 77.

Hoppe F. — *Über die Einwirkung des Kohlenoxydgases auf das Hämatoglobulin.* Virchow's Archiv 1857, 3. Heft, S. 288.

Hoppe-Seyler. — *Über das Verhalten des Blutfarbstoffes im Spectrum des Sonnenlichtes.* Archiv f. pathologische Anatomie und Physiologie, 1862, 23 Bd., S. 446.

— *Einwirkung des Schwefelwasserstoffes auf das Blut.* Centralblatt für die medicin. Wissenschaften 1863, N° 28, S. 433.

— *Über die optischen und chemischen Eigenschaften des Blutfarbstoffes.* Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1864, N° 52, S. 818.

— *Erkennung der Vergiftung mit Kohlenoxyd.* Centralblatt für die medic. Wissenschaften 1865, N° 4, S. 52.

— *Beiträge zur Kenntnis der Eigenschaften der Blutfarbstoffe.* Zeitschrift für Physiolog. Chemie, 13 Bd. 1889, S. 481.

Horand R. — *Contribution à l'étude des Pigments,* Lyon 1908, p. 8 et 18.

Hüfner G. — *Versuche über die Dissociation der Kohlenoxydverbindung des Blutfarbstoffes.* Archiv für Physiologie 1895, S. 221.

Küster W. — *Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffes.* Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. 43, 1910, p. 340

Krogh A. — *Combination of hœmoglobin with oxygen.* Skandin. Arch. f. Physiol. 1910, Bd. 43, p. 220.

Krogh A. and Leitch. — *The respiratory function of the blood in fishes.* The journal of Physiology, March 1919, Vol. LII, N° 5, p. 288.

Labbé M. — *Physiologie Générale. Le sang* 1902.

Lambert M. et Garnier L. — *De l'action du chloroforme sur le pouvoir réducteur du sang.* C. r. Soc. de Biologie, Février 1901, p 197.

Lambling E. — *Précis de Biochimie* 1911.

Landois-Rosemann. — *Lehrbuch der Physiologie.* Berlin, 1916, 1. Bd., S. 65.

Lavialle P. et Thonnard J. — *Contributions à l'étude de quelques hémoglobines.* Comptes rendus de la Soc. de Biologie, t· LXXXIII, N° 13, 1920.

Letsche E. — *Über die Einwirkung von Hydroxylamin auf den Blutfarbstoff.* Maly Rich. Jahresbericht der Tier-Chemie, Wiesbaden 1913, Bd. 42, S. 158.

Letsche E. — *Über das Verhalten von Hämoglobin gegen Hydrazin und die Frage nach dem Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes.* Zeitschrift für physiol. Chemie 1910. Heft II. Bd. 67, S. 177 und 189.

Lewin L., Miethe A. u. Stenger E. — *Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschafteu des Blutfarbstoffes und anderer Farbstoffe des tierischen Körpers.* Pflügers Archiv 1907, S. 80—128.

Lewin L. — *Lehrbuch der Toxikologie,* Wien 1885, P. 22.

Lewin L. — *Die spektroskopische Blutuntersuchung*, Archiv der Pharmacie 1897, 4. Heft, S. 235.

Linossier G. — *Sur la recherche spectroscopique du sang.* Bulletin de la Soc. de chimie 1888, (2), V. 49, p. 692.

Lochte Th. — *Gerichtsärztliche und polizeiärztliche Technik*, Wiesbaden 1914, p. 165.

Lœwy A. — *Über die Dissociationsspannung des Oxyhæmoglobins im menschlichen Blute.* Archiv für Anatomie und Physiologie 1904, S. 231.

Mac Munn A. — *The Spectroscope in Medicine. London* 1880, p. 48.

Maly Rich. — *Jahresberichte der Tier-Chemie*, Wiesbaden 1912, Bd. 41 und Wiesbaden 1913, Bd. 42, S. 158.

Manchot W. — *Untersuchungen über die Sauerstoffbindung im Blute.* Sitzungsbericht der Physikal. chem. Gesellschaft, Würzburg 1909.

Meyer H. et Gottlieb R. — *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, Wien 1918, S. 435 und 558.

Michel Fr. — *Über Hæmochromogen und die spektroskopische Unterscheidung von Kohlenoxydhæmoglobin und Oxyhæmoglobin.* Chem. Zeitung, 1911, N° 109, S. 996.

Morat J. P. et Doyon M. — *Traité de Physiologie I.* Paris 1904, p. 616.

Müller Er. — *Über die Ferricyanid Methode zur Bestimmung des Sauerstoffes im Blut ohne Blutgaspumpe.* Arch. f. Physiologie 1905, CIII. 11 u. 12, S. 451.

— *Die Blut- und Hämoglobinmenge und die Sauerstoffkapacität des Blutes bei gesund und blaßaussehenden Kindern.* Jahrbuch für Kinderheilkunde 72. Ergänzungsh. 1910, p. 176.

Neuberg C. — *Der Harn und die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten*, Berlin 1911, S. 1015.

Ogier J. — *Traité de Chimie Toxicologique*, Paris 1899, p. 73.

Oinuma Soroku. — *The relative rates of oxidation and reduction of blood.* Journ. of Physiology N° 5, 1911, p. 364.

Oppenheimer C. — *Grundriss der Physiologie. I. Biochemie.* Leipzig 1919. S. 105.

Ostwald W. — *Über die Natur der Bindung der Gase im Blut und in seinen Bestandteilen.* Zeitschr. f. Chemie und Industrie der Kolloide, 1908, Bd. II, S. 264.

Piotrowski Gust. — *Pendant combien de temps peut-on retrouver de l'oxyde de carbone dans le sang après l'empoisonnement?* Comptes rendus Soc. Biologie 1893, N° 45, p. 433.

Podolinski S. — *Über die Austreibbarkeit des Kohlenoxyds und Stickoxyds aus dem Blute.* Archiv für die gesamte Physiologie 1872, N° 6, S. 553.

Preyer W. — *Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffes.* Centralblatt für die medicin. Wissenschaften, 1867, N° 18, S. 274.

Ronchèse A. — *Guide pratique pour l'analyse des urines*, Paris 1915, p. 174.

Schumm O. — *Klinische Spektroskopie*, Jena 1909, S. 41.

Seifert u. Müller Fr. — *Klinische Diagnostik*, Wiesbaden, 1910, S. 86.

Siegfried M. — *Über Hæmoglobin*, Archiv f. Physiologie 1890, S. 386 und 395.

Stokes G. G. — *On the reduction and oxydation of the colouring matter of the blood.* Philosoph. Magazine, London 1864, Vol. XXVIII, 4 série.

Teichmann E. u. Verworn M. — *Handwörterbuch der Naturwissenschaften,* Jena 1912, Bd. I, p. 690.

Thoinot L. — *Précis de médecine légale,* Paris 1913, t. II, p. 524.

Thonnard J. — *Contribution à l'étude des hémoglobines.* Comptes rendus de la Soc. de Biologie, t. LXXXIII. N° 12, 1920, p. 441.

— *Contribution à l'étude des carboxyhémoglobines.* Comptes rendus de la Soc. de Biologie 1920, t. LXXXIII, N° 12, p. 443.

Thonnard J. et Lavialle P. — *Contribution à l'étude de quelques hémoglobines.* Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1920, t. LXXXIII, N° 13.

Valentin G. — *Beiträge zur Kenntnis des Winterschlafs der Murmeltiere.* Centralblatt für die medicin. Wissenschaften, 1864, N° 13, S. 194.

Vitali D. — *Manuale di chimica tossicologica,* Milano, 1893, p. 130.

Vogel W. — *Prakt. Spektralanalyse irdischer Stoffe,* Nördlingen, 1877, S. 322.

Wolff J. — *Sur quelques phénomènes de réduction de l'oxyhémoglobine.* Comptes rendus Académie des Sciences, 1911, p. 1332.

Würtz Ad. — *Dictionnaire de Chimie* 1906, Paris, T. v.

Ziemke. — *Weitere Untersuchungen über die forensische Bedeutung der Spektroskopie und Spektrographie im violetten Teil des Spektrums.* In Vierteljahresschrift für gerichtl. Medizin 1912, Bd. 43, S. 24.

Table des Matières.

Pages :

Introduction 7

CHAPITRE I.

Généralités et Historique 13

CHAPITRE II.

Technique et Réactifs utilisés 31

CHAPITRE III.

Étude de l'action de quelques corps réducteurs et d'un gaz, l'hydrogène, sur les oxyhémoglobines 38
I. Les principaux spectres sanguins 40
II. Action du sulfure d'ammonium sur les oxyhémoglobines 41
III. Action de l'hydrosulfite de soude sur les oxyhémoglobines 51
IV. Action du réactif de STOKES sur les oxyhémoglobines 52
V. Action du chlorhydrate d'hydroxylamine sur les oxyhémoglobines 53
VI. Action de divers réducteurs sur les oxyhémoglobines . 54
VII. Influence de l'alcalinité des solutions de corps réducteurs sur la formation d'hémochromogène aux dépens de l'oxyhémoglobine 54
VIII. Vieillissement du sang 56
IX. Action de l'hydrogène sur les oxyhémoglobines . . . 56

CHAPITRE IV.

Étude de l'action de l'oxygène et de l'hydrogène sur les carboxyhémoglobines 61
I. L'action de l'oxygène sur les carboxyhémoglobines . . 63
II. L'action de l'hydrogène sur les carboxyhémoglobines . 65
III. Considérations générales et conclusions 67
IV. Bibliographie 71